Versuche über die Aufnahme von Zucker durch Hefezellen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Basel

von

Wilhelm Musfeld

aus Essen (Deutsches Reich)

Bern / Buchdruckerei Büchler & Co. / 1942

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der

Herren Professoren Dr. **M. Geiger-Huber** und Dr. **G. Senn.**

Basel, den 26. Februar 1942.

Prof. Dr. A. Portmann, Dekan.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Separatabdruck aus: „Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft"
1942, Band 52
(Als Sonderdruck ausgegeben am 14. November 1942)

Versuche über die Aufnahme von Zucker durch Hefezellen.

Von *Wilhelm Musfeld.*

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Basel.)

Eingegangen am 6. Juni 1942.

Inhaltsverzeichnis. Seite

Einleitung 583
Methodisches:
I. Das Versuchsobjekt 585
II. Die zu bestimmenden Grössen 586
III. Ausführung der Messungen 586
1. Die Zuckerbestimmung 586
2. Die Bestimmung der Atmung und Gärung 588
3. Die Bestimmung der Zellenzahl 590
a) Bestimmung mit der Zählkammer 591
b) Bestimmung mit dem Hämatokriten 591
c) Bestimmung mit der photoelektrischen Zelle 592
4. Die Bestimmung der Zelldimensionen 596
5. Arbeitsgang 604
Zur Physiologie der Zuckeraufnahme 605
Zusammenfassung 616
Literaturverzeichnis 618

Einleitung.

Es ist eine der Hauptaufgaben der Physiologie, den Stoffaustausch zwischen den Zellen und ihrer Umgebung zu studieren, um die Gesetzmässigkeiten aufzudecken, nach denen dieser vor sich geht. Leider sind unsere Kenntnisse hierüber auch heute noch recht lückenhaft. Wir wissen zwar dank der Permeabilitätsforschung manches über den Bau und die Eigenschaften jener protoplasmatischen Membranen, die den Eintritt (oder Austritt) von Stoffen in die Zelle erlauben oder verhindern. Aber die Ergebnisse der Permeabilitätsuntersuchungen geben uns auch neue Rätsel auf, indem z. B. die Zuckerarten allgemein unter jene Stoffe eingereiht werden, die nur sehr *schwer* durch diese Membranen permeieren (s. z. B. Collander, 1937). Gerade diese Aussage ist aber besonders merkwürdig, denn, wie allgemein bekannt, handelt es sich ja bei den Zuckern um Nährstoffe, die ständig innerhalb der Gewebe von Zelle zu Zelle befördert werden.

Um diesen Widerspruch aufzuklären, hat schon einer der Begründer der modernen Permeabilitätslehre (Overton, 1895) betont, dass bei der Stoffaufnahme der Zelle zwischen dem *Diffundieren* und der eigentlichen *aktiven Aufnahme* zu unterscheiden ist. Die Geschwindigkeit, mit der die Stoffe durch Diffusion in die Zelle gelangen, oder aus ihr austreten, hängt u. a. von der Art des Stoffes, seinem Konzentrationsgefälle, aber auch wesentlich vom Bau der Protoplasmamembranen der betreffenden Zelle ab. Die aktive Aufnahme von Stoffen, oder, wie sich Overton ausdrückt, die « adenoide Tätigkeit » der Zelle, ist dagegen ein Lebensvorgang, zu dessen Ablauf die Zelle Arbeit aufwenden muss; dabei können sowohl schwer permeiernde Stoffe, wie z. B. die Zucker, oder auch Stoffe entgegen dem Konzentrationsgefälle in die Zelle hineingeschafft werden.

So leicht sich auch die Diffusion der Stoffe *gedanklich* von der adenoiden Tätigkeit unterscheiden lässt, so schwer gestaltet sich doch die *experimentelle* Trennung der beiden Vorgänge. Es ist daher wertvoll, wenn man beim jetzigen Stand der Dinge und den gegebenen Möglichkeiten experimenteller Untersuchung überhaupt etwas über die Gesetzmässigkeiten erfährt, nach denen die Aufnahme von Stoffen in die Zelle vor sich geht.

Es wurde mir daher für die vorliegende Arbeit die Aufgabe gestellt, *die Aufnahme der Glukose,* also eines anerkannt schwer permeierenden Stoffes (s. Collander u. Bärlund, 1933) in die Hefezelle zu studieren, wobei folgende Beobachtung als Ausgangspunkt diente (Geiger-Huber, 1934, 10 ff.): Trägt man Hefen in eine zuckerfreie Lösung von KH_2PO_4 ein, so nimmt ihre Atmung rasch ab und erreicht nach relativ kurzer Zeit einen annähernd konstanten Endwert; gibt man in diesem Zeitpunkt der Zellsuspension Zucker in geeigneter Konzentration (m/100—m/10) zu, so steigt die Atmung schon nach kurzer Zeit stark an und hält sich für die nächsten Stunden auf einem konstanten Wert (s. a. Fig. 2). Diese Tatsache der Atmungssteigerung beweist, dass der Zucker wirklich innerhalb kurzer Zeit in die Zelle *eindringt* oder doch an die Reaktionsorte gelangt. Da die Grösse des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäurebildung bei der Atmung in einer bestimmten und durch die Atmungsgleichung gegebenen stöchiometrischen Beziehung zum dabei stattfindenden Zuckerverbrauch steht, so ist es offenbar möglich, zu berechnen, wieviel Zucker verbraucht worden ist. Es ist zudem klar, dass diese verbrauchte Zuckermenge bei *kohlehydratfreien* Zellen aus dem die Zelle umgebenden Milieu stammen muss. Die aus der Atmung berechnete Zuckermenge ergibt aber nur einen Minimalwert des aufgenommenen Zuckers. Ermittelt man dagegen nach dem Versuch die Menge des noch in der *Aussenlösung* vorhandenen Zuckers, so kann man angeben, wieviel Zucker von der Zelle tatsächlich aufgenommen

worden ist. Ausserdem besteht dann die Möglichkeit, die in einer bestimmten Zeit aufgenommene Menge des Zuckers in Beziehung zu setzen zu jener Menge, die in der gleichen Zeit durch die Atmung der Zelle verbraucht wurde.

Da die Hefezelle nicht nur durch Atmung, sondern auch durch Gärung Zucker verbraucht, so muss zusätzlich die Grösse der Gärung bestimmt und daraus der vergärte Zucker berechnet werden.

Die im folgenden dargestellte Untersuchung gibt also Aufschluss über die Fragen :

I. Wie gross ist die Zuckeraufnahme einer Hefezelle in einem Versuchsintervall bestimmter Länge ?

II. Wie gross ist in der gleichen Zeit der Zuckerverbrauch der Hefezelle durch die energieliefernden Reaktionen ?

III. In welcher Weise hängen Zuckeraufnahme und Zuckerverbrauch von äusseren Bedingungen ab ?

Methodisches.

I. Das Versuchsobjekt.

Bei unsern Versuchen wurde immer *glykogenfreie* Bäckerhefe (Saccharomyces cerevisiae) verwendet, die in handelsüblicher Qualität von einer Bäckerei bezogen wurde. Diese Hefe wurde zuerst auf ihre Suspendierbarkeit geprüft durch Schütteln in m/15 KH_2PO_4. Eine gleichmässige Suspension zeigte den frischen Zustand des Materials an. Ausserdem wurde bei entsprechender Verdünnung unter Zusatz von Methylenblau (1 : 10 000) der tatsächliche Zustand der Zellen mikroskopisch überprüft. Es fanden sich im Gesichtsfeld bei einer ca. 6promilligen Suspension immer nur wenige angefärbte, d. h. tote Zellen. Zugleich wurde die Anwesenheit von Bakterien kontrolliert; solche konnten in keinem Fall festgestellt werden. Die Untersuchung der Zellen auf Glykogen vor den Versuchen fiel immer *negativ* aus; ich verwendete zum Nachweis die von H. Will angegebene Jodlösung: 20 g Jodkalium, 20 g Jod, 100 ccm Wasser. (Euler und Lindner, Anm. 4, S. 59.)

Das Trockengewicht wurde durch Trocknen von 5—10 g Hefe im elektrischen Ofen bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz bestimmt; als mittleres Trockengewicht ergab sich der Wert von 28 %. Die Trockengewichtsschwankungen von 25,7 % bis 30,5 % hängen hauptsächlich vom Grad der Abpressung ab. Das so festgestellte Wasser ist sowohl adhärierendes als auch zelluläres Wasser, wobei die Schwankungen in der Menge des adhärierenden Wassers nach meinen Beobachtungen grösser sind als diejenigen des zellulären.

Als Suspensionsmilieu diente m/15 KH_2PO_4; die für die Versuche verwendeten Suspensionen waren etwa 2 ‰ resp. 6 ‰.

II. Die zu bestimmenden Grössen.

Um die in der Einleitung angegebenen Fragen beantworten zu können, müssen folgende Grössen bekannt sein :

1. Die Zuckeraufnahme der Zellen.
2. Die Grösse der Atmung und Gärung der Zellen.
3. Die Zellenzahl.
4. Oberfläche eventuell Volumen der Zellen.

Atmung und Gärung müssen bestimmt werden, weil sie die energieliefernden, zuckerverbrauchenden Vorgänge darstellen; da Hefe unter den in vorliegender Arbeit angewendeten Versuchsbedingungen, d. h. eingetragen nur in m/15 KH_2PO_4, kaum wächst (s. Warburg, 1927, S. 352, und Geiger-Huber, 1934, S. 7), so fällt nämlich der Hauptanteil des Zuckerverbrauchs auch tatsächlich auf die Atmung und Gärung.

Die *Zuckeraufnahme* der Zelle ist nicht identisch mit dem Zuckerverbrauch, sondern bestimmt sich aus der Differenz zwischen dem Zuckergehalt der Suspensionsflüssigkeit vor und nach dem Versuch. *Zellenzahl, Oberfläche* und *Volumen* sind Bezugsgrössen; auf sie sind Zuckeraufnahme und Zuckerverbrauch bezogen, um die verschiedenen Versuche vergleichen zu können.

III. Ausführung der Messungen.

1. Die Zuckerbestimmung.

Da den Hefezellen in allen Versuchen Glukose geboten wurde, so beschränkt sich die Zuckerbestimmung auf die *Bestimmung der Glukose*. Pro Versuchsgefäss wurde den Zellen 15 mg Glukose als 0,5prozentige Lösung mit m/15 KH_2PO_4 zur Verfügung gestellt. Die Aufgabe bestand darin, den in der Suspensionsflüssigkeit nach dem Versuch noch zurückbleibenden Restzucker zu bestimmen. Die von Neuweiler (1933) angegebene kolorimetrische Methode zur Blutzuckerbestimmung mit Hilfe des Pulfrich-Photometers (Zeiss und Krebs, 1938) genügte unsern Anforderungen. Ihr liegt als Prinzip die Reduktion von Ferricyanid zu Ferrocyanid durch Zucker zugrunde; das dabei entstehende Berlinerblau kann, geeignet in Suspension gehalten, stufenphotometrisch gemessen werden.

Reagenzien : I. Ferricyankalilösung : 1 g (Merk pro anal.) in 500 ccm Wasser. II. Cyanidkarbonatlösung : 8 g Natriumkarbonat, wasserfrei, in Wasser gelöst, dazu 150 ccm einer 1prozentigen Natriumcyanidlösung auf 500 ccm aufgefüllt. III. Ferrisulfat-Phosphatlösung : 60 ccm Gummiarabikumlösung, hergestellt nach der Vorschrift des D. A. B., werden mit etwa 500 ccm Wasser versetzt. 5 g Ferrisulfat werden in 75 ccm Phosphorsäure (spez. Gew. = 1,7) und 100 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst, nach dem Erkalten zur Gummiarabikumlösung

hinzugegeben und auf 1000 ccm aufgefüllt. Diese Lösung ist im Eisschrank aufzubewahren.

Die Ferricyanidlösung kann nach F o l i n (1929) unter Lichtabschluss monatelang aufbewahrt werden; ebenso hält sich die Cyanidkarbonatlösung monatelang gut. Die Ferriphosphatlösung, der Gummiarabikum beigegeben ist, um als Schutzkolloid das schwer lösliche Berlinerblau

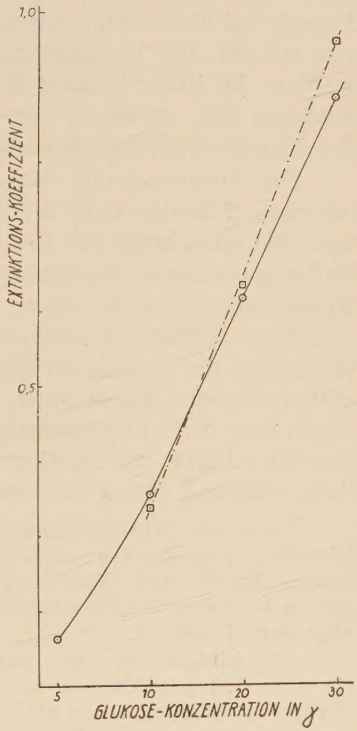


Fig. 1.
Eichkurve zur kolorimetrischen Glukosebestimmung. Filter: S 72; Schichtdicke: 0,5 cm.
—·—·—·— Kurve nach Neuweiler,
———— eigene Kurve.

in Suspension zu halten, ist ebenfalls, wenn im Eisschrank aufbewahrt, monatelang haltbar. Bei der Herstellung dieser Lösung ist es wichtig, dass die Gummiarabikumlösung vor dem Zusatz nicht zu stark erhitzt wird, da sonst die Schutzwirkung ungenügend ist und die Berlinerblaususpension rasch ausfällt. In diesem Falle müsste die Lösung erneuert werden.

Ausführung : 1 ccm der auf Zucker zu untersuchenden Lösung wird in ein 200 ccm Messkölbchen gebracht. Man fügt 3 ccm destilliertes Wasser, 1 ccm Lösung I und 1 ccm Lösung II hinzu. In ein zweites 20 ccm Messkölbchen werden 4 ccm Wasser und ebenfalls 1 ccm Lösung I und 1 ccm Lösung II pipettiert. Der Inhalt beider Kölbchen wird gut durchgemischt, 8 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt und anschliessend durch Einstellen in kaltes Wasser abgekühlt. Jetzt gibt man

in jedes Kölbchen 3 ccm Lösung III und füllt nach 5 Minuten bis zur Marke auf. Die zuckerhaltige Probe zeigt eine mehr oder minder starke blaue Färbung, während die Blindprobe (Kompensationsflüssigkeit), falls die Reagenzien einwandfrei sind, sich nur ganz leicht gelblich-grünlich verfärbt.

Die beiden Proben werden nun gegeneinander stufenphotometrisch gemessen. Für niedrige Konzentrationen von 0,0 bis 0,02 mg in 20 ccm Lösung bei einer Schichtdicke von 1 cm, darüber bei einer Schichtdicke von 0,5 cm. Die Bestimmungen müssen in 1—2 Stunden vorgenommen werden. Als Filter benützt man S 72, welches sich als besonders geeignet erwiesen hat, indem es nur solche Strahlen hindurchlässt, welche von der blauen Untersuchungslösung stark absorbiert werden.

Die Voraussetzung für eine einfache Ausführung der stufenphotometrischen Bestimmung ist die Gültigkeit des Beerschen Gesetzes, wonach die Extinktion der Konzentration der gelösten Substanz (in diesem Fall suspendiertes Berlinerblau) direkt proportional ist. Sowohl die Kurve Neuweilers als auch unsere Eichkurve (Fig. 1) zeigen, dass für einen gewissen Konzentrationsbereich der zu bestimmenden Glukose die Gültigkeit des Beerschen Gesetzes tatsächlich besteht. Es wurde durch entsprechende Massnahmen (Vorversuche, Verdünnungen) dafür gesorgt, dass die zu bestimmenden Glukosewerte stets zwischen etwa 10 γ und 30 γ lagen; als Eichkurve wurde die eigene Kurve benützt, die in ihrer Steigung etwas von derjenigen Neuweilers abweicht.

Die in den Tabellen 7 *a)* und 7 *b)* angegebenen Werte für den Restzucker sind Mittelwerte; sie beziehen sich auf die beiden zusammengehörenden Manometergefässe (für O_2- und CO_2-Bestimmung, s. S. 590) und wurden an 3 bis 5 Parallelproben bestimmt. Die Einzelwerte differieren im Durchschnitt etwa um 8 % gegenüber dem Mittelwert.

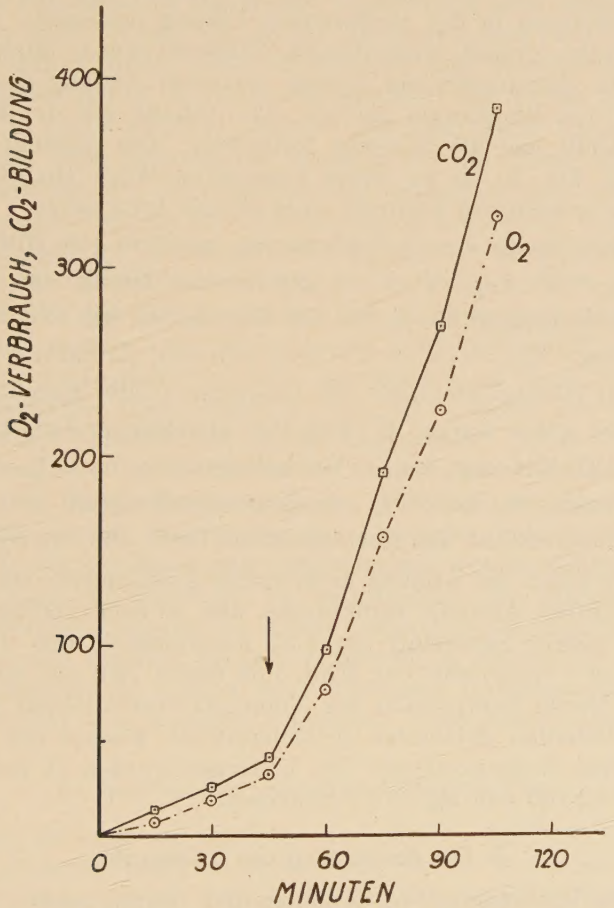
Als Einheit für die Zuckerwerte wurde aus praktischen Gründen γ ($1\,\gamma = 10^{-6}$ g) gewählt, weil so ein direkter Vergleich mit den aus Atmung und Gärung errechneten, recht exakten Werten für den Zuckerverbrauch möglich ist; es ergibt sich dann allerdings die formelle Unstimmigkeit, dass die Stellenzahl der *Restzuckerwerte* in Tabellen 7 *a)* und 7 *b)* der tatsächlich erreichten Genauigkeit nicht entspricht.

2. Die Bestimmung der Atmung und Gärung.

Atmung und Gärung wurden manometrisch mit der Apparatur von Warburg bestimmt (Warburg 1926, Geiger-Huber 1934), indem sowohl der Sauerstoffverbrauch als auch die aerobe Kohlendioxydbildung gemessen wurden.

Im einzelnen geschah dies in folgender Weise : Glykogenfreie Hefen werden in m/15 KH_2PO_4 (pH = 4,5) suspendiert. Je 2,7 ccm einer gleichmässigen Suspension geeigneter Dichte resp. Zellenzahl wurden in den Hauptraum (s. Geiger-Huber, S. 4, Fig. 1) von zwei Atmungsgefässen gebracht. Beim Gefäss I, das zur O_2-Messung diente, wurde in

den Einsatz 0,2 ccm 5 % KOH gegeben zur Absorption des CO_2. Im Gefäss II, dessen Grösse dem Gefäss I genau entsprach und in dem die CO_2-Bestimmung vorgenommen wurde, kam an Stelle der KOH-Lösung 0,2 ccm m/15 KH_2PO_4-Lösung. In dem Anhang beider Gefässe wurde je 0,3 ccm 0,5prozentige Glukoselösung, mit m/15 KH_2PO_4 frisch zubereitet, eingeführt. Die Zuckerkonzentration wurde so gewählt, dass



Figur 2.
Sauerstoffverbrauch und Kohlendioxydbildung von Bäckerhefe.
Vers. 31; m/15 KH_2PO_4; pH : 4,5;
Zugabe von Glukose 0,5 % bei ↓

gerade eine maximale Atmung der Hefezellen über einige Zeit erhalten wird.

Die Manometer mit den angehängten Versuchsgefässen wurden in ein mit Rührwerk und Thermoregulator versehenes, elektrisch heizbares Wasserbad gebracht, wo sie zur Herstellung des Gleichgewichtes in bezug auf Temperatur und gelöste Gase etwa 20 Minuten geschüttelt werden (120 Schwingungen pro Minute, Amplitude ca. 6 cm). Die Einstellung des Wasserbades geschah auf 25° ± 0,03° C resp. 35° ± 0,03° C.

Zu Beginn des Versuches wurde die Atmung der Zellen während 30 bis 60 Minuten in der *zuckerfreien* Lösung bestimmt; sie war erwartungsgemäss gering. Nach diesem Zeitpunkt wurde durch geeignete Neigung des Manometers der Zucker aus dem Anhang des Atmungsgefässes in den Hauptraum gekippt, der Anhang mit der Hefesuspension ausgespült und die Messung fortgesetzt. Die Atmung steigt nun rasch an (s. Fig. 2) bis zu einem konstanten Wert. Die Beobachtung wurde dann gewöhnlich während einer Stunde fortgesetzt.

Die Berechnung des O_2-Verbrauches geschah mit Hilfe der Gleichung: $X_{O_2} = h^I \cdot k_{O_2}$, wo h^I = abgelesener Druck am Manometer, k_{O_2} = Gefässkonstante für O_2 ist. Die Berechnung des CO_2 konnte nach der Gleichung: $X_{CO_2} = (h^{II} - h^I) \cdot k_{CO_2}$ erfolgen, da dafür gesorgt war, dass sowohl Flüssigkeitsräume wie Gasräume beider Manometergefässe genau gleich gross waren; h^{II} bedeutet abgelesener Druck am Manometer für CO_2-Messung, k_{CO_2} = Gefässkonstante für CO_2. Alle gemessenen Volumina, O_2 und CO_2, wurden experimentell mit Hilfe eines Thermobarometers auf den Normalzustand (0° C, 760 mm Hg) reduziert.

Um die durch die Atmung verbrauchte Zuckermenge zu berechnen, wurde die durch Atmung verbrauchte und in ccm (760 mm Hg, 0° C) gemessene Menge Sauerstoff mit 1,33 multipliziert, was dem Zuckerverbrauch in γ entspricht; der Wert 1,33 ergibt sich aus der Atmungsgleichung. Durch Subtraktion der Volumina verbrauchten Sauerstoffes von den Volumina gebildeten Kohlendioxyds konnte die Grösse des durch *Gärung* freigewordenen CO_2 bestimmt werden (1 ccm Gärungs-CO_2 von 0° C, 760 mm Hg = 4 γ Glukose).

3. Die Bestimmung der Zellenzahl.

Für die Bestimmung der Atmung und Gärung sowie des Zuckerverbrauches der Hefe wurden Suspensionen von je 2 ‰ und 6 ‰ verwendet; diese wurden erhalten, indem gewöhnlich 3 g frische Bäckerhefe in 500 ccm m/15 KH_2PO_4 suspendiert und entsprechend verdünnt wurde. Da die Abpressung der Bäckerhefe ebenso wie die Suspendierbarkeit nicht immer gleich gefunden wurde, so war die Beziehung zwischen den bei den verschiedenen Versuchsreihen verwendeten Suspensionsdichten wohl ungefähr, aber nicht genau gegeben. Um die Ergebnisse der einzelnen Versuche unter sich und auch eventuell mit

denjenigen anderer Untersucher vergleichen zu können, mussten sie daher auf geeignete Einheiten bezogen werden. Es wurden sowohl Grössen biologischer als auch physikalischer Art gewählt, nämlich: Zellenzahl und Oberfläche resp. Volumen.

a) Bestimmung mit der Zählkammer.

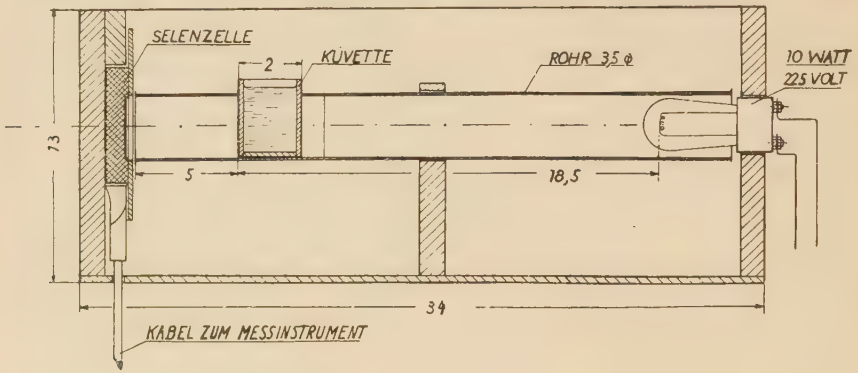
Um die Zellenzahl zu bestimmen, bediente ich mich anfänglich einer Zählkammer nach Thoma, wie sie zur Auszählung der roten Blutkörperchen Verwendung findet (Hämocytometer). Die Beschreibung solcher Apparate findet sich z. B. in der Druckschrift der Firma Zeiss oder gekürzt in Strasburger (1921, S. 109). Die Thoma-Kammer erlaubt bei geeigneter Suspensionsdichte (etwa 2 ‰), die Zellen von $^1/_{10}$ cmm genau auszuzählen. Aus der erhaltenen Zahl kann man dann auf die Zellenzahl des Gesamtvolumens der Hefesuspension schliessen; Voraussetzung ist allerdings, dass die im aliquoten Teil ausgezählte Zellenzahl auch wirklich dem mittleren Gehalt der Suspension an Zellen entspricht. Die Auszählung aller in den 400 Quadraten der Kammer vorhandenen Zellen erfordert aber längere Zeit; infolgedessen wird gewöhnlich nur ein Teil der Quadrate ausgezählt, was aber automatisch zu einer Verschlechterung des Resultates führt. Nach Abbe (1878) nimmt der wahrscheinliche Fehler mit Zunahme der Anzahl ausgezählter Felder ab; aber erst bei Auszählung aller 400 Felder ist der abzuleitende Mittelwert auf etwa 2—3 % genau. Da die Bestimmung der Zellenzahl unserer Hefesuspension zugleich mit der Ausführung der Atmungs- und Gärungsmessung sowie den Zuckerbestimmungen vorgenommen werden sollte, so ist das Auszählen aller 400 Quadrate zu zeitraubend, die Auszählung von weniger Quadraten dagegen für unsere Zwecke zu ungenau. Die Methode wurde daher nur benützt, um die Eichwerte zu liefern für die im folgenden beschriebenen, rascher auszuführenden Bestimmungen und um durch Auszählen von wenigen Quadraten Stichproben vornehmen zu können.

b) Bestimmung mit dem Hämatokriten.

Um eine Methode zu besitzen, die erlaubt, die Suspensionsdichte resp. die Zellenzahl rasch zu bestimmen, wurde der Hämatokrit angewandt (Hamburger, 1902, S. 442 ff.). Das benützte Modell bestand aus einem kleinen, trichterartigen Gefäss mit angeschmolzener, unten offener Kapillare von ca. 50 cmm Inhalt. Durch Eintauchen der Kapillare in geschmolzenes und dazu rot gefärbtes Paraffin wurde diese unten verschlossen. In den Trichter wurde 0,5 bzw. 1 ccm Hefesuspension eingefüllt und dann durch Zentrifugieren die Hefezellen in die Kapillare geschleudert, bis die Höhe der Hefesäule konstant blieb (bei unserer Versuchsanstellung 7,5 Minuten, bei einer Tourenzahl von n = 3000). Von jeder zu bestimmenden Suspension wurden zwei parallele

Proben zentrifugiert. Die abgelesene Säulenhöhe entspricht einem bestimmten Volumen der Hefezellen resp. einer bestimmten Zellenzahl.

Diese Bestimmungen wurden bei jedem Versuch durchgeführt; es zeigte sich jedoch, dass infolge verschiedener Unzulänglichkeiten (Anhaften von Zellen an den Glaswandungen, unscharfe Begrenzung der Hefesäule) die Resultate bei den angewandten Suspensionsdichten noch



Figur 3.

Schnitt durch den Durchleuchtungsapparat zur photometrischen Bestimmung der Zellenzahl.

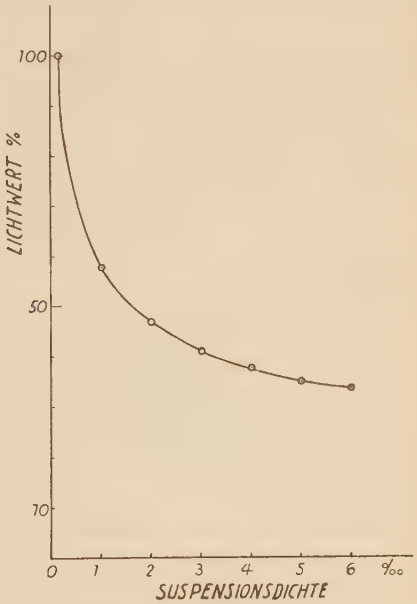
nicht die gewünschte Genauigkeit hatten. Für grössere Suspensionsdichten würden sich die Bestimmungsfehler verkleinern, möglicherweise könnte auch durch entsprechende Veränderung der Hämatokriten die Genauigkeit für meine Versuchsbedingungen gesteigert werden. Ich zog es jedoch vor, eine weitere Methode anzuwenden, die nach Ausführung einiger Vorversuche besonders vielversprechend erschien.

c) Bestimmung mit der photoelektrischen Zelle.

Das Prinzip der Methode besteht darin, dass Licht durch eine Hefesuspension geschickt und die durchfallende Menge mit einer Photozelle bestimmt wird. Je dichter die Hefesuspension ist, um so geringer wird der Anteil des durchfallenden Lichtes sein. Bei geeigneter Versuchsanstellung muss es gelingen, eine Beziehung zwischen Zellenzahl und durchfallender Lichtmenge zu finden. Voraussetzung ist allerdings, dass sich die Zusammensetzung der zu vergleichenden Hefesuspension in bezug auf Grösse, Form und lichtabsorbierenden Inhalt der Zellen nicht wesentlich ändert; diese Voraussetzung ist für unsere Hefesuspensionen weitgehend erfüllt.

Nach verschiedenen Versuchen wurde der im folgenden beschriebene Apparat konstruiert (Fig. 3). In einem lichtdichten, rechteckigen Gehäuse ist die Selenzelle in senkrechter Stellung festgehalten. Ein

Rohr mit fast gleichem Durchmesser wie derjenige der offenen Selenplatte, ist horizonal vor dieser angebracht. Dieses Rohr wird in einem bestimmten Abstand am andern Ende mit einer Lichtquelle versehen. An geeigneter Stelle wird in diesen Lichtzylinder eine Kuvette aus planparallelen Platten hineingestellt; durch besondere Anschläge ist dafür gesorgt, dass die Kuvette stets die genau gleiche Lage gegenüber



Figur 4.
Beziehung zwischen Lichtwert und Suspensionsdichte.

der Lichtquelle einnimmt. Mit verschieden dichten Suspensionen, die man in die Kuvette einbringt, erhält man unterschiedliche Lichtwerte, die auf der Skala des Messgerätes (in der Figur nicht angegeben) abzulesen sind. Die Brauchbarkeit des Apparates hängt wesentlich davon ab, dass seine Dimensionen und die Stärke der Lichtquelle geeignet gewählt werden. Die in Figur 3 angegebenen Masse und Werte wurden nach längerem Probieren herausgefunden und ergaben gute Resultate. Um die Fehler zu vermeiden, die von Schwankungen der Spannung im Stromnetz entstehen, wurde immer möglichst zu den Zeiten gemessen, wo diese erfahrungsgemäss gering sind; ausserdem wurde vor und nach jeder Messung der Hefesuspension die Lichtdurchlässigkeit der allein mit Suspensionsmittel (Wasser) gefüllten Kuvette bestimmt und entsprechend in Rechnung gesetzt. Als « Wasserkuvette » und « Hefesuspensionskuvette » fand ein zusammengehöriges und gleichgebautes Paar 2-cm-Kuvetten des Stufenphotometers Verwendung.

Misst man nun die Lichtdurchlässigkeit verschieden dichter Hefesuspensionen, so ergibt sich, dass die Abhängigkeit durch eine Hyperbel

dargestellt werden kann (Fig. 4). Dies bedeutet, dass starken Aenderungen des Lichtwertes geringe Aenderungen in der Dichte *verdünnter* Suspensionen entsprechen, und anderseits die Lichtdurchlässigkeit *dichter* Suspensionen nur wenig variiert. Die Grenzwerte liegen bei Hefesuspensionen von etwa 1 ‰ resp. 6 ‰ Dichte. Innerhalb dieses Intervalls lassen sich die Beziehungen zwischen Lichtdurchlässigkeit und Zellenzahl resp. Suspensionsdichte allerdings genügend genau darstellen; es besteht nämlich Proportionalität zwischen dem Logarithmus des Lichtwertes und dem Logarithmus der Zellenzahl. Um daher die Dichte unserer Suspensionen bestimmen zu können, wurden sie alle in entsprechender Weise verdünnt. Die praktische Ausführung der Messungen hat gezeigt, dass sich die Genauigkeit der Messung steigern lässt, wenn das Trockengewicht der Hefesuspension berücksichtigt wird.

Als Lichtwert bezeichnen wir daher folgende Grösse :

$$L = \frac{H \cdot G}{W \cdot G'} \cdot 100$$

wobei :

L = Lichtwert in %;
H = am Messinstrument der Selenzelle abgelesener Lichtwert der mit Hefesuspension gefüllten Kuvette;
W = am Messinstrument der Selenzelle abgelesener Lichtwert der mit Wasser gefüllten Kuvette;
G = 28, d. h. mittleres Trockengewicht aller Hefeproben in %;
G′ = Trockengewicht der Versuchshefe in %.

Um eine Beurteilung der Messgenauigkeit zu erlauben, sei eine Messreihe wiedergegeben.

Eingewogen : je 2mal 0,8 g Bäckerhefe in 100 ccm m/15 KH_2PO_4.

Suspension I wurde auf $^1/_2$, $^1/_4$ und $^1/_8$ verdünnt, Suspension II wurde auf $^1/_2$ und $^1/_4$ verdünnt.

Von allen 5 Suspensionen wurde die Lichtdurchlässigkeit bestimmt (s. folgende Tabelle 1). Das Trockengewicht der Hefe betrug : 27,5 %.

Tabelle 1.

Suspension I.

	1 ‰			2 ‰			4 ‰		
	H	W	L	H	W	L	H	W	L
1.	42,5	75,0	57,6 %	35,0	76,0	46,9 %	27,0	73,0	37,6 %
2.	42,0	74,5	57,5 %	35,0	76,0	46,9 %	28,0	75,0	38,0 %
3.	43,0	76,0	57,5 %	34,0	74,0	46,8 %	27,5	75,5	37,1 %
4.	42,5	75,0	57,6 %	34,5	75,0	46,7 %	28,5	76,0	38,2 %
5.	43,0	76,0	57,5 %	34,5	75,5	46,6 %	—	—	—
Mittelwert des Lichtwertes:			57,5 %			46,8 %			37,7 %

Suspension II.

	1 ‰			2 ‰			4 ‰		
	H	W	L	H	W	L	H	W	L
1.	—	—	—	33,5	73,0	46,7 %	27,5	73,5	38,1 %
2.	—	—	—	34,0	74,0	46,8 %	27,5	73,5	38,1 %
3.	—	—	—	34,5	75,0	46,8 %	27,0	74,5	36,9 %
4.	—	—	—	34,0	74,5	46,5 %	27,5	74,5	37,6 %
5.	—	—	—	33,5	74,0	46,3 %	27,5	74,0	37,8 %
Mittelwert des Lichtwertes:						46,6 %			37,7 %
Mittelwert aus beiden Suspensionen:			57,5 %			46,7 %			37,7 %

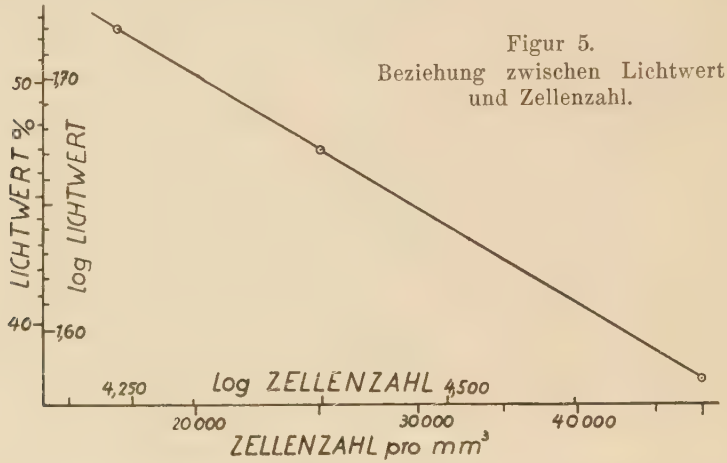
Nachdem die Abhängigkeit zwischen Suspensionsdichte und Lichtwert in den Grundzügen festgelegt war, stellte sich die neue Aufgabe, die Suspensionsdichte durch die Zellenzahl zu ersetzen; denn da infolge verschiedener Abpressung der Presshefe usw. die Suspensionen *nie völlig gleich* hergestellt werden konnten, war es nötig, eine Eichkurve zu ermitteln, die eine möglichst genaue Beziehung zwischen *Zellenzahl* und Lichtwert angibt, ohne dass man sich der Suspensionsdichten als Zwischenwerte bedienen musste. Es wurde daher an Suspensionen geeigneter Dichte, d. h. zwischen ca. 1,5 ‰ und 4 ‰, zu gleicher Zeit sowohl die Zellenzahl als auch der Lichtwert möglichst genau bestimmt. Da die Auszählungen jeweils längere Zeit beanspruchten, wurde der Lichtwert der gewählten Suspensionen mehrmals nacheinander festgestellt, was folgendes Beispiel veranschaulicht (s. Tabelle 2).

Tabelle 2.
Hefesuspension : zirka 2 ‰; Trockengewicht : 26,6 %.
Lichtdurchlässigkeit gemessen :

	um 13.30 Uhr			um 14.00 Uhr			um 16.00 Uhr		
	H	W	L	H	W	L	H	W	L
1.	34,6	76,0	47,8 %	33,0	74,5	46,5 %	34,0	77,0	46,3 %
2.	33,0	74,0	47,0 %	33,0	75,0	46,2 %	33,5	75,0	46,9 %
3.	34,0	76,0	47,1 %	33,0	74,5	46,5 %	35,0	78,0	47,1 %
4.	32,7	74,0	46,5 %	33,5	75,0	46,9 %	—	—	—
Mittelwert des Lichtwertes:			47,1 %			46,5 %			46,8 %
Mittelwert total: 46,8 %									

Zwischen 13 und 16 Uhr wurden viermal je die 400 Quadrate (= $^1/_{10}$ cmm) der Netzplatte der Thoma-Kammer auf Hefezellen ausgezählt. Es ergaben sich folgende Werte : 2558, 2494, 2478, 2520, d. h. im Mittel : $2512{,}5 \pm 17{,}5$ Zellen.

Um Anhaltspunkte darüber zu haben, ob die vier ausgezählten Proben gleichmässig sind und sich beim Auftrage auf die Netzplatte der Thoma-Kammer keine systematischen Fehler ergeben hatten, wurde für jede Auszählung untersucht, wie sich die Zahl der Hefezellen auf die 400 einzelnen Quadrate der Netzplatte verteilt. Bei der untersuchten Suspension waren die Quadrate mit zirka fünf bis sieben Hefezellen weitaus in der Mehrzahl. Die Frequenzkurven für die vier oben angegebenen Hefesuspensions-Proben stimmten weitgehend überein; daraus wurde geschlossen, dass die Probeentnahme einwandfrei war und ein Vergleich dieser Proben, also auch die Mittelwertbildung, erlaubt sei.



Figur 5.
Beziehung zwischen Lichtwert und Zellenzahl.

Die gewählte Suspension von ca. 2 ‰ enthält demnach im Mittel pro cmm : 25 125 Zellen und besitzt einen Lichtwert von 46,8 %.

Nach diesem Verfahren wurden weitere Punkte der Eichkurve gewonnen (s. Figur 5 und auch Tabelle 3).

4. Die Bestimmung der Zelldimensionen.

Um die physiologischen Leistungen der untersuchten Proben von Hefezellen unter sich und eventuell mit denjenigen anderer pflanzlichen Zellen vergleichen zu können, ist es nötig, geeignete Bezugsgrössen zu wählen. Die Zellen wurden daher ausgemessen und dann sowohl *Volumen* als auch *Oberfläche* bestimmt.

Die Angaben von Nägeli (1880, S. 103), Rubner (1912, S. 366) und Söhngen (1927, S. 94) sind in der zahlenmässigen Bestimmung sehr variabel. Wir können deshalb auch hier wohl das gleiche betonen, was Wermel (1932, S. 674) in der Einleitung seiner zytologischen Arbeit ausführt, dass « trotz der grossen Zahl der Arbeiten über Zellgrössen, diese meistens sehr unvollkommen sind, da die Erscheinung der Variabilität als solche fast unerforscht ist und die Methoden der Variationsstatistik gar nicht angewandt werden. Eine blosse Erwähnung der arithmetischen Mittelzahlen hat nur geringe Bedeutung. Wir haben fast

Tabelle 3.

Beziehung zwischen Lichtwert und Zellenzahl (abgeleitet aus Fig. 5).

Lichtwert	Zellenzahl pro cmm	Lichtwert	Zellenzahl pro cmm
40 %	42 500	47 %	24 950
41 %	39 100	48 %	23 230
42 %	36 000	49 %	21 600
43 %	33 350	50 %	20 300
44 %	30 900	51 %	19 000
45 %	28 700	52 %	17 850
46 %	26 750		

Zellenzahl pro cmm	Lichtwert	Zellenzahl pro cmm	Lichtwert
18 000	51,95 %	31 000	44,05 %
19 000	51,00 %	32 000	43,55 %
20 000	50.24 %	33 000	43,15 %
21 000	49,50 %	34 000	42,85 %
22 000	48,80 %	35 000	42,40 %
23 000	48,20 %	36 000	42,00 %
24 000	47,50 %	37 000	41,69 %
25 000	46,94 %	38 000	41,40 %
26 000	46,40 %	39 000	41,02 %
27 000	45,90 %	40 000	40,74 %
28 000	45,40 %	41 000	40,41 %
29 000	44,88 %	42 000	40,13 %
30 000	44,40 %	43 000	39,86 %

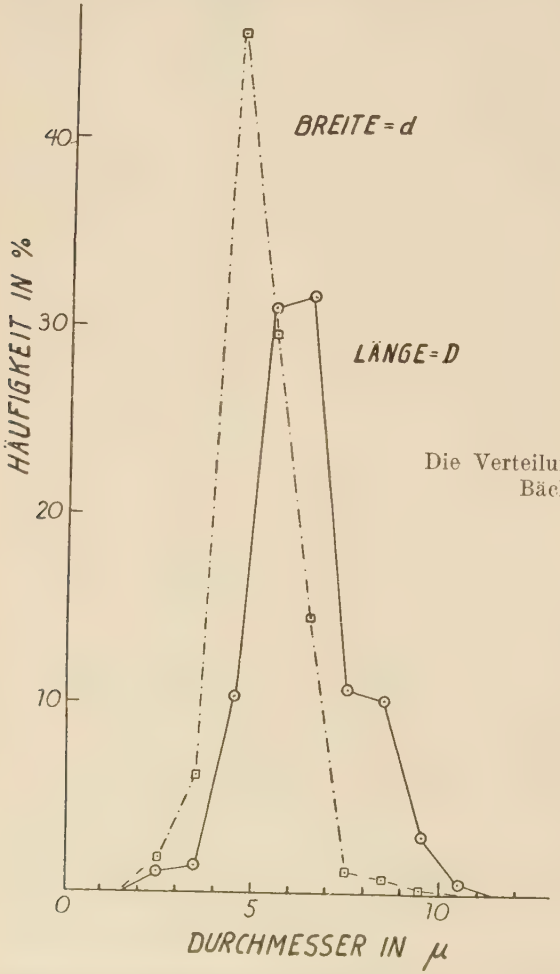
gar nichts in der Literatur über den Charakter der Variationskurve der Zellengrösse gefunden, über die Amplitude, ihre Symmetrie und Exzessivität.» In ähnlicher Weise äussert sich B o o i j (1940, S. 57) im Hinblick auf eine Volumenbestimmung der Zellen mit dem Satz: « It will then be necessary to measure the volume of yeast cells immediately. »

Eine direkte Bestimmung der Zelloberfläche oder des Zellvolumens der einzelnen Hefezellen war unmöglich. Ich bestimmte deshalb an einer grösseren Zahl ($n = 500$) von Hefezellen die beiden Durchmesser D und d. Die Kurven in Figur 6 zeigen, dass sich die einzelnen Werte ziemlich symmetrisch und entsprechend einer Wahrscheinlichkeitskurve um die Mittelwerte gruppieren; die mittlere Länge einer Zelle beträgt $D = 6{,}33\ \mu$ ($m = \pm 0{,}06$, $\sigma = \pm 1{,}36$), die mittlere Breite beträgt $d = 5{,}07\ \mu$ ($m = \pm 0{,}04$, $\sigma = \pm 0{,}99$).[1] Die Dicke der Zelle darf nach ein-

[1] $m = \pm \sqrt{\frac{\Sigma f^2}{n(n-1)}}$; $\sigma = \pm \sqrt{\frac{\Sigma f^2}{n-1}}$;

f = Abweichung des Einzelwertes vom Mittelwert.
n = Anzahl der Einzelwerte.

gehenden mikroskopischen Beobachtungen annähernd gleich der Breite gesetzt werden. Wir können also die verwendeten Hefezellen als Rotationskörper betrachten, deren Rotationsachse in Richtung des grösseren Durchmessers liegt. Die Schwierigkeit in der Bestimmung der notwendigen Grössen besteht nun darin, dass die Länge und Breite einer Hefezelle mittlerer *Oberfläche* resp. mittleren *Volumens* nicht dem Mittel-



Figur 6.
Die Verteilung der Zellgrössen in einer Bäckerhefe-Suspension.

werte der Länge resp. Breite entspricht, wie er durch die Messungen festgestellt worden ist.

Für eine Anzahl Kugeln von verschiedenen Durchmessern, die sich symmetrisch und entsprechend einer Wahrscheinlichkeitskurve um den mittleren Durchmesser gruppieren, ergibt sich z. B., dass der mittlere Radius dieser Kugeln ($R_m = 4$) zum Radius, der sich aus der mittleren Oberfläche derselben Kugeln ($R_o = 4{,}25$) resp. aus ihrem mittleren Volumen ($R_v = 4{,}46$) berechnen lässt, sich verhält wie: 1 : 1,06 und 1 : 1,115.

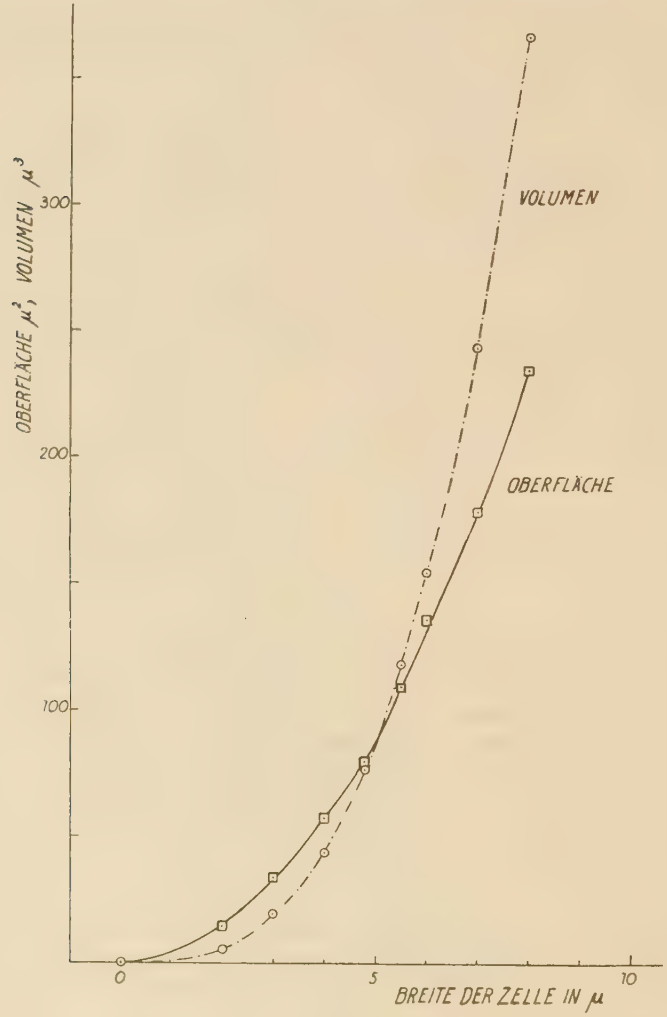
Da man es im Falle der Hefezellen mit einem Körper zu tun hat, dessen Ausdehnungen mindestens nach zwei Seiten des Raumes deutlich verschieden sind, ist es keineswegs leicht, aus der mittleren Länge und Breite zur mittleren Oberfläche resp. zum mittleren Volumen zu gelangen, obwohl diese Werte zweifellos mit der Grösse σ (die uns bekannt ist) irgendwie zusammenhängen müssen. Wenn σ nämlich sehr klein wird, d. h. alle Zellen nahezu gleich gross sind, dann entspricht selbstverständlich die Oberfläche der Zelle mittlerer Grösse auch weitgehend der mittleren Oberfläche aus allen Zellen; wird schliesslich $\sigma = 0$, so werden die betrachteten Werte identisch.

Es wurde daher versucht, dieses Problem in folgender Weise zu lösen, um wenigstens Annäherungswerte zu erhalten : Gelingt es nämlich nachzuweisen, dass die Hefezellen in ihrer *Form weitgehend ähnlich sind,* so kann an entsprechenden Modellen verschiedener Grösse das Volumen resp. die Oberfläche bestimmt werden; da die Grössenverteilung der Zellen der verwendeten Hefesuspension bekannt ist (siehe Figur 6), so lassen sich aus diesen Werten das Gesamtvolumen resp. die Gesamtoberfläche der Zellen einer Hefesuspension und bei Berücksichtigung der Zellenzahl, die gesuchten Werte für das *mittlere* Volumen resp. die *mittlere* Oberfläche ermitteln.

Der Quotient aus Länge und Breite bestimmte sich aus Messungen an ca. 1000 Hefezellen zu durchschnittlich $\frac{D}{d} = 1{,}30$, d. h. die verwendeten Hefezellen sind also im Mittel ca. ⅓ länger als breit. Die Werte für diesen Quotienten schwanken zwischen 1,03 und 1,8, seine Streuung beträgt σ für $\frac{D}{d} = \pm 0{,}152$. Vergleicht man die *prozentuale* Streuung für die mittlere Zellänge (σ für $D = 21{,}5\ \%$) und diejenige für die Breite resp. Tiefe der Hefezelle (σ für $d = 19{,}6\ \%$) mit derjenigen des Quotienten (σ für $D/d = 11{,}6\ \%$), so ergibt sich, dass die Länge der Hefezellen resp. ihre Breite und Dicke *grössere* Streuung zeigt als dieser Quotient. Dies bedeutet aber offenbar, dass die Grösse der Zellen mehr schwankt als ihre Form, d. h. dass sich also die Hefezellen *formähnlich* sind. Tatsächlich wird dieses Ergebnis durch die direkte mikroskopische Beobachtung bestätigt, indem nämlich die weitaus meisten Zellen eine « Eiform » oder die Form eines Rotationsellipsoides aufweisen und nur wenige sich in ihrer Form den Extremen, also der Kugel oder einem zylinderähnlichen Gebilde, nähern. Diese Feststellung erlaubt nun auch, das *mittlere* Volumen und die *mittlere* Oberfläche nach dem oben skizzierten Verfahren zu bestimmen.

Zu diesem Zwecke wurden aus Plastilin « Hefezellen » verschiedener Grösse modelliert, deren Ausmasse in cm den Ausmassen einer Hefezelle in μ entsprachen. Als Form wurde entsprechend den mikroskopischen Beobachtungen eine « Eiform » gewählt. Die Volumina

dieser Körper wurden durch Wasserverdrängung bestimmt; die Oberflächen wurden dadurch erhalten, dass man die Körper mehrmals in eine Kollodiumlösung eintauchte, bis sich eine dicke und festanliegende Kollodiumhaut gebildet hatte. Diese wurde mit scharfem Messer in geeignete Flächen (Rechtecke und Dreiecke) zerschnitten und ausgemessen; die erhaltenen Werte sind dargestellt in Tabelle 4 und Figur 7.



Figur 7.

Experimentell ermittelter Zusammenhang zwischen Breite und Volumen resp. Oberfläche der Hefezelle.
(Die Hefezelle wird als Rotationskörper betrachtet mit einem Achsenverhältnis 1 : 1,3).

Tabelle 4.
An Modellen experimentell bestimmte Werte.

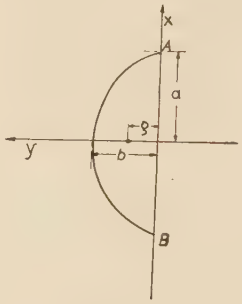
	d	D	Oberfläche	Volumen
1.	2,0 cm	2,6 cm	14,5 cm^2	5,5 cm^3
2.	3,0 cm	3,9 cm	34,2 cm^2	19,5 cm^3
3.	4,0 cm	5,2 cm	57,1 cm^2	43,7 cm^3
4.	4,8 cm	6,2 cm	79,5 cm^2	76,2 cm^3
5.	5,5 cm	7,2 cm	109,5 cm^2	118,5 cm^3
6.	6,0 cm	7,8 cm	135,5 cm^2	154,0 cm^3
7.	7,0 cm	9,1 cm	178,0 cm^2	243,0 cm^3
8.	8,0 cm	10,4 cm	234,0 cm^2	365,0 cm^3

Da die Zellenzahl jeder verwendeten Hefesuspension bestimmt wurde (s. S. 590 ff.) und die Verteilung der Zellgrösse einer Hefesuspension auf die verschiedenen Grössenklassen bekannt ist (s. Figur 6), so kann das mittlere Volumen resp. die mittlere Oberfläche der Hefezellen ermittelt werden. Weil die Verteilung der Frequenzwerte über die verschiedene Länge und Breite nicht ganz gleichmässig ist, ergaben sich bei Klassenbreiten von ½ μ und ¼ μ mehrgipflige Kurven; auch eine Vermehrung der Messungen bis auf $n = 725$ glich diese Schwankungen nicht aus. Die in der Figur 6 aufgeführte eingipflige Frequenzkurve ergab sich erst bei einer Klassenbreite von 1 μ. Wurde nun die mittlere Oberfläche resp. das mittlere Volumen nach dem Integrationsverfahren aus den Frequenzkurven mit folgenden Klassenbreiten : 1 μ, ½ μ und ¼ μ ausgerechnet, so ergaben sich doch *annähernd gleiche* Werte. Die Werte für die mittlere Oberfläche betragen nämlich bei einer Klassenbreite von : 1 $\mu = 103{,}4\ \mu^2$; ½ $\mu = 103{,}8\ \mu^2$; ¼ $\mu = 101{,}9\ \mu^2$; die entsprechenden Werte für das mittlere Volumen sind bei einer Klassenbreite von 1 $\mu = 95{,}1\ \mu^3$; ½ $\mu = 95{,}2\ \mu^3$; ¼ $\mu = 96{,}0\ \mu^3$. Wir entschlossen uns, aus diesen verschiedenen Werten diejenigen mit einer Klassenbreite von ¼ μ zu wählen, weil bei dieser Klassenbreite der tatsächliche Grössenaufbau der Hefesuspension wohl am wahrscheinlichsten dargestellt wird. Die später in Rechnung gestellten Werte betragen daher : *mittlere Oberfläche einer Hefezelle : 102* μ^2, ihr *mittleres Volumen : 96* μ^3.

Obwohl die Kurvendarstellung (Figur 7) zeigt, dass die angewandten Methoden zur experimentellen Ermittlung von Volumen und Oberfläche der Hefezell-Modelle nicht mit grossen Fehlern behaftet sein können, so sollten doch die erhaltenen Werte auch durch die rechnerische Ermittlung von Volumen und Oberfläche kontrolliert werden. Dabei war es allerdings notwendig, eine weitere Vereinfachung zu machen und die Hefezelle nicht als *eiförmigen* Körper, sondern als ein Rotations*ellipsoid* zu betrachten. Für einen solchen Körper ergibt sich das Volumen aus : $V = {}^1/_6\ \pi\ d^2 \cdot D$, wobei wie vorher d = Breite resp.

Dicke der Hefezelle, D = Länge der Hefezelle ist. Die auf diese Weise errechneten Werte finden sich in Tabelle 5.

Für die Berechnung der Oberfläche des Rotationsellipsoides konnte jedoch keine so einfache Formel gewählt werden, sondern es war folgende mathematische Ueberlegung notwendig.



Figur 8.
S. Text.

Berechnung der Oberfläche des Rotationsellipsoides.[1]

Die Oberfläche eines Rotationsellipsoides ist nach der Guldinschen Regel:
$F = 2\pi\varrho \cdot s$
ϱ = der Abstand des Schwerpunktes,
s = die Länge des halben Ellipsenbogens (in Figur 8: A—B).

Nach der Definition des Schwerpunktes ist $\varrho \cdot s = \int_B^A y \cdot ds$.

Das ganze Problem besteht jetzt in der Berechnung des Integrals. Die Parameterdarstellung einer Ellipse ist:

$$x = a \cdot \cos\varphi \qquad y = b \cdot \sin\varphi$$

$$ds^2 = dx^2 + dy^2 = (a^2 \cdot \cos^2\varphi + b^2 \cdot \sin^2\varphi) \cdot d\varphi^2$$

$$= b^2 \ (1 + \eta \sin^2\varphi) \cdot d\varphi^2 \qquad \frac{a}{b} = 1 + \varepsilon$$

$$ds = b \ (1 + \eta \sin^2\varphi)^{\frac{1}{2}} \, d\varphi \qquad \frac{a^2}{b^2} = 1 + \eta$$

$$y \cdot ds = b^2 \cdot \sin\varphi \ (1 + \eta \sin^2\varphi) \ d\varphi$$

$$F = 2\pi b^2 \int_0^{\pi} \sin\varphi \ (1 + \sin^2\varphi)^{\frac{1}{2}} \, d\varphi \qquad \frac{a^2}{b^2} = 1 + 2\varepsilon + \varepsilon^2$$

Dieses Integral lässt sich nicht geschlossen auswerten. Wir nehmen deshalb η als klein an und entwickeln nach Potenzen von η nach dem binomischen Lehrsatz.

Es gilt allgemein:

$$(1 + x)^n = 1 + n \cdot x + \frac{n\,(n-1)}{1 \cdot 2} x^2 + \frac{n\,(n-1)\,(n-2)}{1 \cdot 2 \cdot 3} x^3 + \cdots$$

solange $x < 1$;

in unserem Fall:

$$(1 + \eta \sin^2\varphi)^{\frac{1}{2}} = 1 + {}^1/_2 \, \eta \sin^2\varphi - {}^1/_8 \, \eta^2 \sin^4\varphi + {}^1/_{16} \, \eta^3 \sin^6\varphi \cdots$$

und jetzt können wir jeden Term für sich integrieren.

[1] Die Berechnung wurde unter freundlicher Mithilfe von Dr. J a u c h, Zürich, durchgeführt, wofür ich ihm herzlich danke.

Wir haben allgemein das Integral:

$$\int_0^{\pi} \sin^{2n-1} \cdot \varphi d\varphi = 2 \frac{2 \cdot 4 \cdot 6 \cdot \cdots \cdot 2n}{1 \cdot 3 \cdot 5 \cdot \cdots \cdot 2n-1}$$ somit wird für F

$$F = 2\pi b^2 \left\{ 2 + \eta\, {}^1/_2 \cdot 2 \cdot \frac{2}{1 \cdot 3} - \eta^2\, {}^1/_8 \cdot 2 \frac{2 \cdot 4}{1 \cdot 3 \cdot 5} + \eta^3 \cdots \right\}$$

$$F = 2\pi b^2 \left\{ 2 + {}^2/_3\, \eta - {}^2/_{15}\, \eta^2 + {}^2/_{35}\, \eta^3 - {}^1/_{63}\, \eta^4 + \cdots \right\}$$

Wird $F = 4\pi b^2 \cdot R\ (\eta)$ gesetzt,

so ist $R\ (\eta) = 1 + {}^1/_3\, \eta - {}^1/_{15}\, \eta^2 + {}^1/_{35}\, \eta^3 - {}^1/_{126}\, \eta^4 + \cdots$

Der Ausdruck kann für verschiedene Werte von η berechnet werden, wobei

$$\eta = 2\varepsilon + \varepsilon^2 \text{ und } \varepsilon = \frac{a}{b} - 1 \text{ ist.}$$

In unserem Falle wurde das mittlere Achsenverhältnis zu 1,3 ermittelt. Dieser Wert eingesetzt, ergibt:

$$\frac{a}{b} = 1{,}3, \text{ somit } \varepsilon = 0{,}3 \text{ und } \eta = 0{,}6 + 0{,}09 = 0{,}69$$

$$R\ (\eta) = 1 + 0{,}23 - \frac{(0{,}69)^2}{15} + \frac{(0{,}69)^3}{35} - \cdots$$

Berücksichtigen wir die Glieder der Reihe bis zur 3. Potenz von η, so ergibt sich der Wert $R\ (\eta) = 1{,}207$.

Die Formel für die Oberfläche eines Rotationsellipsoides vom Achsenverhältnis $\frac{D}{d} = 1{,}3$ ist demnach:

$$F = 4\pi\ (d/2)^2 \cdot 1{,}207$$

wo: d = Breite des Rotationsellipsoides resp. Hefezelle,
D = Länge des Rotationsellipsoides resp. Hefezelle.

Die mit Hilfe dieser Formel ausgerechneten Werte für die Oberfläche finden sich in Tabelle 5.

Tabelle 5.

Berechnete Werte für ein Rotationsellipsoid.

	d	Oberfläche	Abweichung	Volumen	Abweichung
1.	2,0 cm	15,14 cm²	+ 4,5 %	5,44 cm³	— 1,0 %
2.	3,0 cm	34,05 cm²	— 0,5 %	18,35 cm³	— 5,9 %
3.	4,0 cm	60,60 cm²	+ 6,2 %	43,60 cm³	— 0,2 %
4.	4,8 cm	87,20 cm²	+ 9,7 %	74,80 cm³	— 1,8 %
5.	5,5 cm	114,30 cm²	+ 4,3 %	114,10 cm³	— 3,7 %
6.	6,0 cm	136,20 cm²	+ 0,5 %	146,90 cm³	— 4,6 %
7.	7,0 cm	185,40 cm²	+ 4,1 %	233,50 cm³	— 3,9 %
8.	8,0 cm	242,00 cm²	+ 3,3 %	348,40 cm³	— 4,5 %
9.	9,0 cm	306,50 cm²	—	474,00 cm³	—
10.	10,0 cm	378,50 cm²	—	681,00 cm³	—

In Kolonne 4 und 6 sind die Abweichungen der berechneten gegenüber den an Modellen experimentell bestimmten Werten in % angegeben.

Vergleicht man nun die empirisch gewonnenen Zahlen (Figur 7 und Tabelle 4) mit denen der Rechnung (Tabelle 5), so ergeben sich nur in ganz wenigen Fällen Differenzen von mehr als 5 %; diese Differenzen würden sich noch verkleinern, wenn man für die entsprechenden Oberflächen und Volumina die Werte den ausgeglichenen Kurven (Figur 7) entnimmt. Da zudem die Werte für einen *eiförmigen* Körper und ein Rotations*ellipsoid* nicht ganz gleich ausfallen, so darf die Uebereinstimmung zwischen den berechneten und den empirisch gewonnenen Werten für genügend gehalten werden.

5. Arbeitsgang.

Zum Versuch wurde immer 0,6 g frische Bäckerhefe, aus dem inneren Teil eines grösseren Presshefebrockens herausgelöst, in 100 ccm m/15 KH_2PO_4 aufgeschwemmt und vor dem Versuch kühl aufbewahrt. Die notwendige Glukoselösung wurde jedesmal frisch hergestellt und anschliessend die schon Seite 585 erwähnten Kontrollen am Objekt durchgeführt. Nachdem der Warburgsche Apparat auf die bestimmte Versuchstemperatur einreguliert und die Atmungsgefässe nach sorgfältiger Reinigung mit den angegebenen Zutaten beschickt worden waren, musste die Atmung zuerst solange *ohne* Glukosezugabe durchgeführt werden, bis sich ein annähernd konstanter Endwert einstellte (meist nach 30 bis 45 Minuten). Hierauf wurde bei jedem Manometer die Glukoselösung des Anhanges in den Hauptraum hineingespült und während einer Stunde in bestimmten Abständen der weitere Versuchsverlauf verfolgt. Dann wurde den Manometergefässen ein aliquoter Teil der Suspension mit Pipetten entnommen und zentrifugiert. Dieser Zwischenvorgang von der Beendigung der Atmungsmessung bis zur Beendigung des Abzentrifugierens der Hefen aus der auf Restzucker zu untersuchenden Suspension dauerte *stets* 6 Minuten; diese Zeitspanne wurde bei den Berechnungen berücksichtigt.

Der Abbruch des Versuches hinsichtlich der *Zuckeraufnahme* der Hefe geschah also dadurch, dass die Zellen mit Hilfe der Zentrifuge *rasch* von der Glukoselösung getrennt wurden. Andere denkbare Methoden um den Versuch abzubrechen, wie z. B. Abtöten der Zellen durch Gifte oder Hitze oder auch die Einschränkung ihres Stoffwechsels durch Narkotika, wurden *absichtlich* nicht angewendet. Da ja nicht bekannt ist, wieweit durch eine solche Massnahme die Permeabilität der verwendeten Hefezellen für Zucker eventuell verändert wird und wieweit infolgedessen die Bestimmung des Restzuckers nach der physiologischen Seite hin gefälscht wird, so wurde vorgezogen, den Versuch durch rasches Zentrifugieren abzubrechen, obwohl auch dieser Methode gewisse Unzulänglichkeiten, allerdings *technischer* Art, anhaften.

Der zweite Teil des Versuches ist inzwischen vorbereitet worden. Je drei bis fünf aliquote Teile der abzentrifugierten Suspensionsflüssigkeit wurden auf das 200fache verdünnt und nach Neuweilers Methode die noch vorhandene Glukosemenge bestimmt; auf diese Weise erhält man brauchbare Mittelwerte. Dieser Verdünnungsgrad wurde durch Vorversuche festgelegt; ist die Verdünnung zu niedrig gewählt, so zeigt sich schon im Wasserbad ein Verschwinden der grünlichen Färbung von Ferricyankali. Am Schluss der Behandlung ergibt sich bei der Zugabe der 3 ccm Ferrisulfat-Phosphat-Lösung die blaue Färbung, deren Intensität mit dem Stufenphotometer gemessen werden kann. Alle Proben wurden innerhalb einer Stunde untersucht, weil nachher die Wirkung des Schutzkolloids abnimmt. Die abgelesenen Trommelwerte (Extinktion) ergaben an Hand unserer Kurve (Fig. 1) dann die Glukosemenge direkt in γ. Diese Werte müssen ent-

sprechend der angewandten 200fachen Verdünnung und den 3 ccm Gesamtflüssigkeit im Hauptraum der Manometergefässe mit der Zahl 600 multipliziert werden, um die gesamte zurückgefundene Glukosemenge (Restzucker) zu erhalten.

Die Hefen aus dem Atmungsgefäss wurden auch stets auf ihren Glykogengehalt mikroskopisch geprüft.

Zur Physiologie der Zuckeraufnahme.

Die Frage der Zuckeraufnahme wurde schon von Nägeli (1880, S. 104) diskutiert. Er suchte eine Begründung an Hand ältester Angaben Pasteur und Dumas) zu geben und sagt in seiner Abhandlung : « Die Hefezelle muss nicht nur den durch Gärung gebildeten Weingeist ausscheiden, sondern auch den dazu erforderlichen Zucker aufnehmen, und zwar muss fast doppelt soviel Glykose hinein-, als Alkohol hinausgehen.» Rubner (1913, S. 250—252) stellt in seinem Buch die grundlegenden Fragen : « Ist diese Zuckermenge aber wirklich in die Zelle gelangt oder wird sie an der Oberfläche zurückgehalten ? » und « Was geschieht mit diesem aufgenommenen Zucker ? ». Er selbst schreibt auf Grund seiner experimentellen Untersuchungen (S. 251) : « Die gärende Zelle nimmt den Zucker schnell in weit grösseren Mengen ins Innere auf und zerlegt ihn; aber sicher ist, dass auch hier zu Anfang wenigstens weit mehr Zucker an der Zelle fixiert als von ihr verbraucht wird, und wenn dies Gleichgewicht gestört wird, so könnte sehr wohl wieder Zucker adsorbiert werden.» Im weitern führt Rubner (S. 252) aus : « Es ist bekannt, dass die Hefe imstande ist, grössere Mengen von Glykogen anzuspeichern.» Meyerhof (1925, S. 77) sagt : « Bei Versuchen mit Presshefe in kurzen Zeiträumen (1 Std.) und verdünnter Zuckerlösung (0,25 %) werden in Stickstoff 20—30 %, bezogen auf den Umsatz des Zuckers, mehr verbraucht, als sich aus der Gärungskohlensäure berechnet, was zum grossen Teil auf Kohlehydrat-Assimilation, zum geringeren auf Nebenprozesse zu beziehen ist. In Sauerstoff dagegen beträgt diese Differenz 50—120 %. Dieses Plus muss auf die in Sauerstoff gesteigerte Assimilation der Hefe bezogen werden. »

Höfler (1926, S. 455) greift auf die Pflanzenzelle im allgemeinen zurück; er weist in dieser Beziehung auch auf verschiedene andere Autoren hin und schreibt : « Für die Zucker ist an der typischen Pflanzenzelle der osmotische Permeabilitätsnachweis noch nicht gelungen. Gerade der Rohrzucker gilt als eine Substanz, die das Plasma nur äusserst langsam oder gar nicht durchdringt . . . Die grosse Mehrzahl der Autoren (so Prát, 1922, und Beck, 1926) fand in Rohrzucker keinen fassbaren Plasmolyse-Rückgang. Nur an den hochpermeablen Fäden von Beggiatoa konnten Ruhland und Hoffmann (1925) deutliche Durchlässigkeit auch für Kohlehydrate nachweisen. Als indirekter Beweis für die Aufnahme von Zuckern in die Zelle können die Versuche von Boehm (1883), A. Meyer (1886), Ruhland (1911) und andern gelten,

Tabelle 6.

Lichtwert stets an 2 ‰igen Suspensionen gemessen; Hämatokritwert bezieht sich auf 1 cc 2‰ige Hefesuspension.

Versuchs-Nr.	Lichtwert %	Trockengewicht %	Hämatokritwert cmm
13/14	42,2	30,5	2,55
7	42,5	28,7	2,58
21/22	44,3	28,2	2,23
6	44,4	28,0	2,18
12	44,7	28,2	2,27
10	45,0	27,0	2,06
25/26	45,5	29,0	2,20
5	46,0	30,0	1,95
27/28	46,3	26,6	2,09
16	46,4	26,3	2,03
29/30	46,5	27,0	1,98
23/24	46,5	26,0	1,99
17/18	46,7	26,5	1,99
19/20	48,6	25,7	1,87
31/32	48,8	27,5	1,61

wonach sich entstärkte Pflanzenteile im Dunkeln auf Zuckerlösungen zur Stärkebildung bringen lassen. »

Dass aber eine deutliche Zuckeraufnahme bestehen muss, bei Zellen gleich welcher Art, wird durch Untersuchungen auf andern physiologischen Gebieten bestätigt. Fleischmann (1928) führt zur Frage der Permeabilität pflanzlicher und tierischer Zellmembranen für Kohlehydrate aus (S. 450), dass « ... auch bei Blutkörperchen die Glukoseaufnahme ganz verschieden verläuft ... Ege, der sich mit dieser Frage viel beschäftigt hat, kommt zu der Vorstellung, dass der Traubenzucker zuerst nur oberflächlich an die Zellmembran adsorbiert wird und dann ganz langsam in das Zellinnere eindringt. Die Eindringungsgeschwindigkeit nimmt bei einem Anstieg der Temperatur von 30° auf 40° um mehr als das 10fache zu. » In der Diskussion der Ergebnisse sagt Fleischmann : « Wenn wir versuchen, die gewonnenen Versuchsergebnisse für die Theorie der Kohlehydrate zu verwerten, und sie nochmals überschauen, so werden wir als eindeutiges Resultat in guter Uebereinstimmung bei allen untersuchten Zellen finden, dass die Zucker rascher eindringen als die Alkohole mit gleicher C-Atomanzahl. » Mit diesen allgemein gültigen Auffassungen decken sich nicht die Angaben von Wertheimer (1934), die sich auf « gelähmte » Hefezellen beziehen und der (S. 530) « einen Permeabilitätsvorgang als ersten Prozess in der Zuckerassimilation für die Hefezelle » ablehnt, sich an eine « adsorptive Bindung des Zuckers an der Zelloberfläche » hält, und dazu schreibt : « Man kann in der Literatur öfters Stellen begegnen, wo an eine solche

Tabelle 7 a.

Experimentell bestimmte Grössen für Versuche mit *verdünnten* Hefesuspensionen (zirka 2 ‰).

Versuchs-Nr.	Zellenzahl	O_2-Verbrauch	totale CO_2-Bildung	Restzucker
	$\cdot 10^6$	cmm	cmm	γ
		Versuche bei 25° C.		
13 a	95,8	161	232	11 960
21 a	82,0	132	188	12 100
10 a	77,5	136	187	11 550
25 a	74,8	123	165	12 340
27 a	70,7	132	172	11 890
29 a	69,7	107	147	12 260
23 a	69,5	102	136	12 460
17 a	68,5	108	146	12 340
19 a	60,0	83	120	12 370
31 a	59,6	107	140	12 340
		Versuche bei 35° C.		
14 a	95,8	218	328	11 300
22 a	82,0	196	286	11 950
12 a	79,2	196	280	11 860
26 a	74,8	187	260	10 900
28 a	70,7	172	246	10 840
16 a	70,2	180	245	11 100
30 a	69,7	171	243	10 510
24 a	69,5	174	237	11 910
18 a	68,5	171	241	11 570
20 a	60,0	162	203	10 880
32 a	59,6	149	179	11 250

Möglichkeit der primären Adsorption der Stoffe an die Zelle gedacht wurde; aber niemals wurde eine solche tatsächlich bewiesen. »

Wertheimer (1934) glaubt durch seine Versuche eine solche für den Zuckerhaushalt der Zelle grundlegende Adsorption des Zuckers an die Zelloberfläche festgestellt zu haben. Er erklärt zudem (S. 550) : « Nicht der Zucker als solcher wird im Falle der Hefezelle aufgenommen, sondern das Reaktionsprodukt, das an der Plasmagrenzfläche entsteht.»

Wir selbst haben beim Studium der grossen Literatur über Zuckeraufnahme und Zuckerpermeabilität den Eindruck gewonnen, dass über diese Fragen viele Ansichten geäussert werden und die Autoren sich auch bemühen, mit Hilfe von Analogieschlüssen und indirekten Methoden einen Einblick in diese wichtigen, aber verwickelten Vorgänge zu gewinnen, dass aber auswertbare quantitative Messungen über eine Zuckeraufnahme recht spärlich sind. Es ist daher eine Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit, solche Werte herbeizuschaffen.

Tabelle 7 b.
Experimentell bestimmte Grössen für Versuche mit *dichteren* Hefesuspensionen (zirka 6 ‰).

Versuchs-Nr.	Zellenzahl	O_2-Verbrauch	totale CO_2-Bildung	Restzucker
	$\cdot 10^6$	cmm	cmm	γ
	Versuche bei 25° C.			
13 b	287,4	380	485	9 570
7	281,5	375	474	9 910
21 b	246,0	378	440	10 680
6	243,5	341	436	10 800
6*	243,5	356	453	10 510
10 b	232,5	356	437	10 520
25 b	224,4	330	410	10 110
5	216,0	330	427	9 940
5*	216,0	333	407	10 030
27 b	212,1	350	423	9 880
29 b	209,1	317	390	10 320
23 b	208,5	322	386	10 230
17 b	205,6	328	397	10 310
19 b	180,0	311	370	9 640
31 b	178,8	296	345	9 970
	Versuche bei 35° C.			
14 b	287,4	424	768	10 260
22 b	246,0	401	690	6 820
12 b	237,6	396	678	9 540
26 b	224,4	386	645	7 040
28 b	212,1	371	601	6 650
16 b	210,7	371	602	7 460
30 b	209,1	373	616	6 720
24 b	208,5	377	608	7 170
18 b	205,6	381	598	6 800
20 b	180,0	350	514	6 470
32 b	178,8	350	505	6 570

Experimentelle Ergebnisse.

In Tabelle 6 finden sich die Licht- und Hämatokritwerte sowie auch die Trockengewichte für jene Versuche aufgeführt, die im folgenden besprochen werden.

Die experimentell ermittelten Werte für Zellenzahl, Gasaustausch und Restzucker einer Anzahl Versuchsbeispiele sind in den Tabellen 7 a und 7 b dargestellt, geordnet nach Versuchstemperaturen von 25° C und 35° C und Suspensionsdichten. Da infolge verschiedener Abpressung resp. Trockengewicht der Hefe die Suspensionsdichten nie genau gleich waren, so wird in den beiden Tabellen die aus den Lichtwerten

Tabelle 8 a.

Alle Werte für *verdünnte* Suspensionen (zirka 2 ‰); obere Gruppe für 25° C, untere Gruppe für 35° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-Nr.	Zucker-verbrauch pro Stunde	Zucker-aufnahme pro Stunde	Zucker-aufnahme / Zucker-verbrauch	Zucker-verbrauch pro Zelle und Stunde	Zucker-aufnahme pro Zelle und Stunde	O_2-Verbrauch pro Zelle und Stunde	CO_2-Bildung (total) pro Zelle und Stunde	Gärungs-CO_2 pro Zelle und Stunde
	γ	γ		$\cdot 10^{-6}\,\gamma$	$\cdot 10^{-6}\,\gamma$	$\cdot 10^{-6}$ cmm	$\cdot 10^{-6}$ cmm	$\cdot 10^{-6}$ cmm
13 a	499	3040	6,1	5,2	31,7	1,68	2,42	0,74
21 a	402	2900	7,5	4,9	35,4	1,61	2,29	0,68
10 a	386	3450	8,9	5,0	44,5	1,75	2,41	0,66
25 a	333	2660	8,0	4,4	35,6	1,65	2,20	0,55
27 a	336	3110	9,3	4,7	44,0	1,87	2,44	0,57
29 a	303	2740	9,0	4,3	39,3	1,54	2,11	0,57
23 a	272	2540	9,3	3,9	36,6	1,47	1,96	0,49
17 a	288	2660	9,2	4,2	38,8	1,58	2,52	0,94
19 a	259	2630	10,1	4,3	43,8	1,38	2,00	0,62
31 a	275	2660	9,7	4,6	44,6	1,80	2,34	0,54
14 a	731	3700	5,1	7,6	38,6	2,28	3,42	1,14
22 a	721	3050	4,2	8,8	37,2	2,39	3,49	1,10
12 a	519	3140	6,0	6,6	39,7	2,47	3,54	1,07
26 a	472	4100	8,7	6,3	54,8	2,50	3,48	0,98
28 a	530	4160	7,8	7,5	58,8	2,43	3,48	1,05
16 a	500	3900	7,8	7,1	55,5	2,56	3,49	0,93
30 a	517	4490	8,7	7,4	64,4	2,46	3,48	1,02
24 a	484	3090	6,4	7,0	44,4	2,50	3,41	0,91
18 a	509	3430	6,7	7,4	50,1	2,50	3,52	1,02
20 a	381	4120	10,8	6,9	68,7	2,70	3,38	0,68
32 a	318	3750	11,8	5,3	63,0	2,50	3,00	0,50

und dem Grad der Verdünnung ermittelte Zellenzahl für jeden Versuch ebenfalls angegeben.

Die *Versuchsbedingungen* für alle Versuche waren die folgenden: m/15 KH_2PO_4, pH = 4,5, Glukosezusatz 15 000 γ, entspricht einer Konzentration im Moment der Zuckerzugabe von 0,5 %, Dauer der Versuche 1 Stunde, resp. 66 Minuten (s. Seite 604).

Die aufgeführten Werte beziehen sich alle auf eine Stunde. In der 2. Spalte findet sich die Zellenzahl, in der 3. und 4. Spalte finden sich die Werte für den Sauerstoffverbrauch und die Kohlendioxydbildung, aus denen unter Benützung der Atmungsgleichung resp. Gärungsgleichung der entsprechende Zuckerverbrauch ausgerechnet werden kann (1 cmm O_2 = 1,33 γ Glukose; 1 cmm Gärungs-CO_2 = 4 γ Glukose); in der 5. Spalte ist die analytisch ermittelte Restzuckermenge angegeben.

Wenn diese Werte für die Beantwortung der hier interessierenden physiologischen Fragen Verwendung finden sollen, dann müssen sie in

Tabelle 8 b.

Alle Werte für *dichtere* Suspensionen (zirka 6 ‰); obere Gruppe für 25° C, untere Gruppe für 35° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-Nr.	Zucker-verbrauch pro Stunde	Zucker-aufnahme pro Stunde	Zucker-aufnahme / Zucker-verbrauch	Zucker-verbrauch pro Zelle und Stunde	Zucker-aufnahme pro Zelle und Stunde	O_2-Verbrauch pro Zelle und Stunde	CO_2-Bildung (total) pro Zelle und Stunde	Gärungs-CO_2 pro Zelle und Stunde
	γ	γ		$\cdot 10^{-6}\,\gamma$	$\cdot 10^{-6}\,\gamma$	$\cdot 10^{-6}$ cmm	$\cdot 10^{-6}$ cmm	$\cdot 10^{-6}$ cmm
13 b	925	5430	5,9	3,2	18,9	1,34	1,69	0,35
7	896	5090	5,7	3,2	18,1	1,33	1,68	0,35
21 b	750	4320	5,7	3,1	17,6	1,54	1,79	0,25
6	834	4200	5,0	3,4	17,2	1,40	1,79	0,39
6*	863	4490	5,2	3,5	18,4	1,46	1,86	0,40
10 b	801	4480	5,6	3,4	19,2	1,53	1,88	0,35
25 b	759	4890	6,4	3,4	21,8	1,47	1,83	0,36
5	828	5060	6,1	3,8	23,4	1,53	1,98	0,45
5*	740	4970	6,7	3,4	22,9	1,54	1,88	0,34
27 b	759	5120	6,7	3,6	24,1	1,73	1,99	0,26
29 b	717	4680	6,5	3,4	22,4	1,52	1,86	0,34
23 b	685	4770	7,0	3,3	22,8	1,55	1,85	0,30
17 b	714	4690	6,6	3,5	22,9	1,60	1,93	0,33
19 b	651	5360	8,2	3,6	29,7	1,73	2,06	0,33
31 b	590	5030	8,5	3,3	28,2	1,65	1,93	0,28
14 b	1942	4740	2,4	6,8	16,5	1,48	2,68	1,20
22 b	1691	8180	4,8	6,9	33,2	1,63	2,80	1,17
12 b	1657	5460	3,3	7,0	23,0	1,67	2,86	1,19
26 b	1551	7960	5,1	6,9	35,4	1,72	2,88	1,16
28 b	1414	8350	5,9	6,7	39,3	1,75	2,84	1,09
16 b	1417	7540	5,3	6,7	35,7	1,76	2,86	1,10
30 b	1470	8280	5,6	7,0	39,6	1,78	2,94	1,16
24 b	1427	7830	5,5	6,8	37,6	1,81	2,92	1,11
18 b	1385	8200	5,9	6,8	39,9	1,85	2,91	1,06
20 b	1125	8530	7,6	6,2	47,4	1,95	2,86	0,91
32 b	1088	8430	7,7	6,1	47,2	1,96	2,82	0,86

entsprechender Weise umgerechnet werden; dies ist geschehen in den Tabellen 8 a und 8 b, deren Anordnung im übrigen gleich bleibt.

In den beiden Tabellen 8 a und 8 b ist in der 2. Spalte der aus Atmung und Gärung (s. Tabellen 7 a und 7 b) berechnete Zuckerverbrauch angegeben, entsprechend folgendem Beispiel: *Versuch 25 b:* O_2-Verbrauch: 330 cmm = 439 γ Glukose; totale CO_2-Bildung: 410 cmm; Gärungs-CO_2 demzufolge 410 minus 330 = 80 cmm, entspricht 320 γ Glukose. Gesamt-Glukoseverbrauch durch Atmung und Gärung ist 759 γ.

In der 3. Spalte ist die Zuckeraufnahme angegeben, sie ergibt sich als Differenz zwischen der zur Verfügung gestellten Zuckermenge (15 000 γ) und der durch Analyse bestimmten Restzuckermenge.

Spalte 4 enthält den Quotienten aus Zuckeraufnahme und Zuckerverbrauch. Man erkennt, *dass in allen Fällen die Zuckeraufnahme grösser ist als der gleichzeitige Zuckerverbrauch durch Atmung und Gärung.* Da die Versuche mit verschiedener Zellenzahl ausgeführt wurden, so sind die ermittelten Werte nicht direkt vergleichbar; sie wurden daher umgerechnet auf den Wert für eine Zelle (s. Spalten 5 bis 9).

Um den Vergleich noch eindrücklicher zu gestalten, wurden die experimentellen Ergebnisse der Tabellen 7 und 8 in Tabelle 9 als Mittelwerte der Zelleistung zusammengefasst. Als Bezugsgrösse wurde gewählt die *Einzelzelle* (Angaben unter a) und die *Zelloberfläche* (Angaben unter b). Die Leistung der einzelnen Zelle wurde ausgedrückt in γ resp. in cmm pro Stunde oder, um den Vergleich zu ermöglichen, in Molekülen pro Sekunde. Die Leistung bezogen auf die Zelloberfläche wurde einheitlich angegeben in g pro cm^2 und Sekunde. Aus Tabelle 9 geht klar hervor, in welcher Weise die Versuchsbedingungen die Leistung beeinflussen. In allen Fällen lässt sich mit Zunahme der Temperatur eine Vergrösserung der Zelleistung, und *zwar auch der Glukoseaufnahme,* feststellen. Die Aenderung der Suspensionsdichte wirkt sich besonders stark bei der Glukoseaufnahme aus, indem dort die Glukoseaufnahme *bei verdünnten* Suspensionen jeweils erheblich *grösser* ist. Der Glukoseverbrauch zeigt dieses Abhängigkeitsverhältnis lange nicht in diesem Masse, was auch aus der Veränderung des Quotienten zwischen Aufnahme und Verbrauch hervorgeht.

Es stellte sich nun die Frage, ob sich hier irgendeine Gesetzmässigkeit verbirgt. Betrachten wir die Werte der Tabellen 8 a und 8 b in den Spalten 5 bis 9, so ergibt sich, dass die auf die Zellenzahl bezogene O_2-Aufnahme, CO_2-Abnahme und auch der Zuckerverbrauch im Gegensatz zu den Werten der Zuckeraufnahme wenig schwanken. Es ist allerdings darauf hinzuweisen, dass die Zuckeraufnahme nicht mit der gleich grossen Genauigkeit (s. Seite 588) bestimmt werden kann wie der Zuckerverbrauch resp. der Gasaustausch; aber auch wenn man diese Tatsache berücksichtigt, so kann damit die sehr starke Schwankung der Zuckeraufnahme nicht erklärt werden. Um dieser Erscheinung näher nachzugehen, wurden die Werte für die Zuckeraufnahme pro Zelle resp. den Zuckerverbrauch pro Zelle gegen die Suspensionsdichte (ausgedrückt in Zellenzahl) abgetragen (s. Figur 9). Schon aus den Zahlenwerten der Spalte 6 (s. Tabellen 8 a, 8 b) liess sich ein «Gang» der Werte erkennen, viel deutlicher kommt dies in Figur 9 zum Ausdruck. Trotz der Streuung, welche die einzelnen Werte zeigen, lässt sich doch sofort für die Zuckeraufnahme eine Gesetzmässigkeit erkennen, wie sie durch die eingetragenen Kurvenzüge angedeutet wird. *Bei beiden untersuchten Temperaturen sinkt nämlich bei zunehmender Zellenzahl, also wachsender Dichte der Suspension oder, anders ausgedrückt, bei abnehmendem relativen Reaktionsvolumen die Zuckeraufnahme der Zelle beträchtlich.*

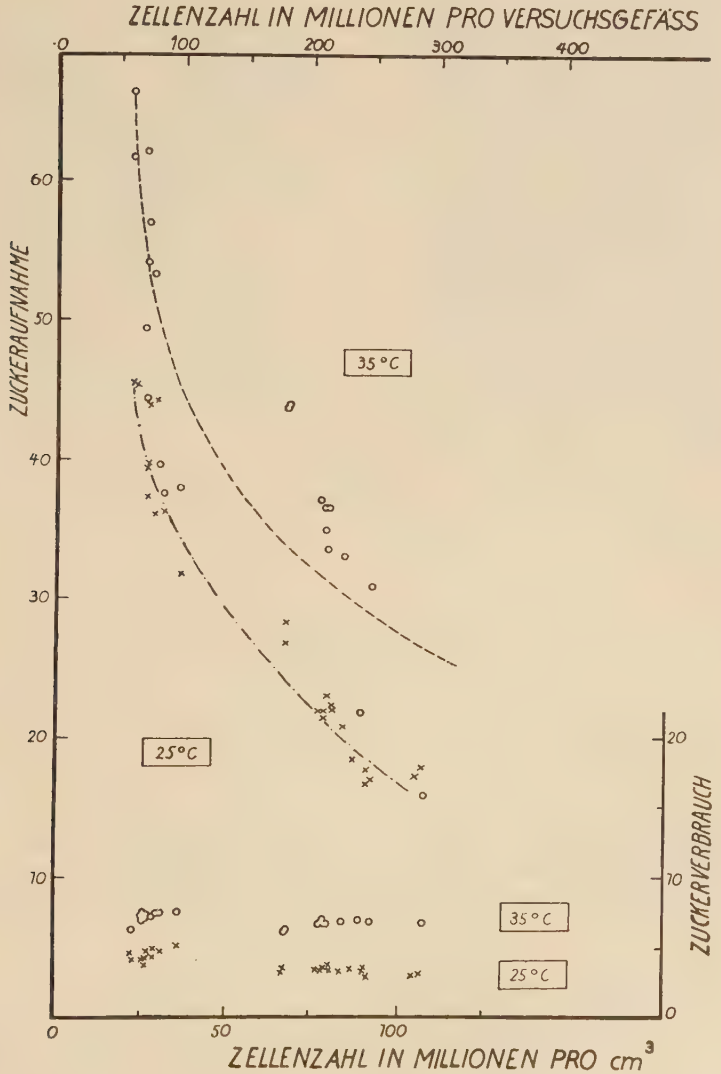
Tabelle 9.

Mittelwerte der Zelleistung für Bäckerhefe (Versuchsbedingungen s. S. 609).

Versuchstemperatur	25° C		35° C	
Suspensionsdichte	2 ‰	6 ‰	2 ‰	6 ‰
Glukoseverbrauch:				
a) einer Zelle γ pro Stde.	4,5 .10−6	3,4 .10−6	7,1 .10−6	6,7 .10−6
Moleküle pro sec.	4,21.10⁶	3,17.10⁶	6,63.10⁶	6,25.10⁶
b) pro Zelloberfläche g/cm²sec. . . .	1,22.10−9	0,93.10−9	1,93.10−9	1,83.10−9
Glukoseaufnahme:				
a) einer Zelle γ pro Stde.	39,4 .10−6	21,8 .10−6	52,3 .10−6	35.9 .10−6
Moleküle pro sec.	36,8 .10⁶	20,4 .10⁶	48,8 .10⁶	33,5 .10⁶
b) pro Zelloberfläche g/cm²sec. . . .	10,7 .10−9	5,9 .10−9	14,2 .10−9	9,8 .10−9
$\frac{\text{Glukoseaufnahme}}{\text{Glukoseverbrauch}}$:	8,8	6,4	7,4	5,4
O_2-Verbrauch:				
a) einer Zelle mm³ pro Stde.	1,63.10−6	1,53.10−6	2,48.10−6	1,76.10−6
Moleküle pro sec.	12,3 .10⁶	11,5 .10⁶	18,6 .10⁶	13,2 .10⁶
b) pro Zelloberfläche g/cm²sec. . . .	0,63.10−9	0,60.10−9	0,97.10−9	0,69.10−9
CO_2-Bildung (total):				
a) einer Zelle mm³ pro Stde.	2,27.10−6	1,87.10−6	3,43.10−6	2,85.10−6
Moleküle pro sec.	17,2 .10⁶	14,1 .10⁶	25,9 .10⁶	21,5 .10⁶
b) pro Zelloberfläche g/cm²sec. . . .	1,22.10−9	1,01.10−9	1,85.10−9	1,53.10−9
Gärungs-CO_2:				
a) einer Zelle mm³ pro Stde.	0,64.10−6	0,34.10−6	0,95.10−6	1,09.10−6
Moleküle pro sec.	4,83.10⁶	2,57.10⁶	7,18.10⁶	8,23.10⁶
b) pro Zelloberfläche g/cm²sec. . . .	0,34.10−9	0,18.10−9	0,51.10−9	0,59.10−9

Dies ist um so merkwürdiger, als auch bei den dichtesten Suspensionen das Gesamtvolumen der Hefezellen im Maximum etwa 8 ‰ des Volumens der Hefesuspension betrug.

Im Gegensatz dazu erweist sich der Zuckerverbrauch resp. der Gasaustausch der Zellen als weitgehend unabhängig von der angewandten Suspensionsdichte (s. Figur 9, unterer Teil); diese zweite Feststellung



Figur 9.
Zuckeraufnahme und Zuckerverbrauch in Abhängigkeit von der Suspensionsdichte.
(In $\gamma \cdot 10^{-6}$ pro Zelle und Stunde.)

stimmt auch überein mit den Angaben von Geiger-Huber (1934, S. 8 u. Figur 3).

Während also die energieliefernden Reaktionen der Zelle bei gegebener Temperatur weitgehend von den übrigen Bedingungen des Milieus unabhängig sind (hinsichtlich der pH-Konzentration, der Zuckerkonzentration und des relativen Reaktionsvolumens s. a. Geiger-Huber: 1930, 1934), so zeigt die Aufnahme des Zuckers eine ausgesprochene Empfindlichkeit hierfür. Es ist klar, dass diesen Erscheinungen eine hohe biologische Bedeutung zukommt, denn die weitgehende Unabhängigkeit der energieliefernden Reaktionen von den Schwankungen der Aussenwelt ist ja geradezu eine Voraussetzung für das autonome Leben der Zelle; die Zuckeraufnahme, die zusammen mit andern Vorgängen der Stoffaufnahme hierfür erst die geeigneten Bedingungen schafft, ist dagegen in grossem Masse von den in der Aussenwelt vorhandenen Bedingungen abhängig.

Damit ergibt sich noch die Frage, was mit dem in der Zelle aufgenommenen Zucker geschieht, deretwegen folgende Untersuchung durchgeführt wurde.

Es wurden *nach* dem Versuch die Hefezellen gewöhnlich jedesmal mikroskopisch mit der Jodprobe auf Glykogengehalt untersucht und *in allen Fällen* sein Vorhandensein festgestellt, wobei daran erinnert sei, dass stets völlig glykogenfreie Hefe zur Verwendung kam. Eine spezielle Untersuchung der Glykogenbildung mit Hilfe der Jodprobe (siehe S. 585) ergab :

bei 25° C

nach 5 Minuten	in einzelnen Zellen schwache Andeutungen von Glykogenvorkommen;
nach 10 Minuten	fast in allen Zellen Andeutungen von Glykogenbildung;
nach 15 Minuten	Glykogen deutlich sichtbar;

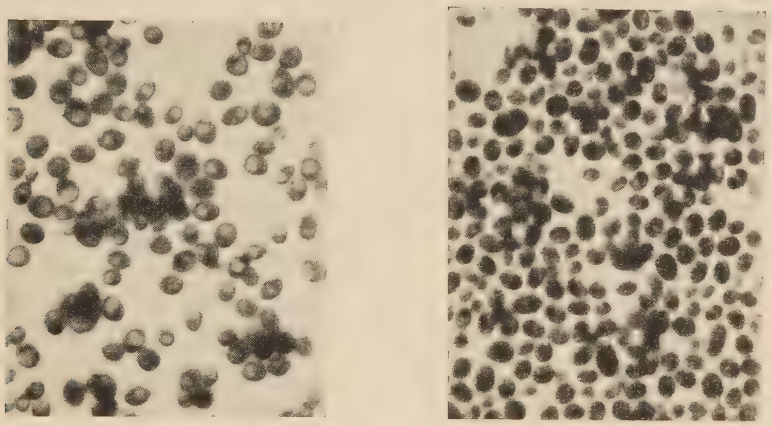
bei 35° C

nach 5 Minuten	Andeutungen von Glykogenbildung;
nach 10 Minuten	Glykogen deutlich sichtbar;
nach 20 Minuten	Glykogen überall deutlich vorhanden, aufgelöst in einzelne Körnchen.

Unsere Beobachtungen (s. Figur 10) ergaben also :

1. dass die Glykogenbildung auch bei geringer Zuckerkonzentration (0,5 %) *sehr bald* nach der Zuckerzugabe festgestellt werden kann;
2. dass bei 35° C die Glykogenbildung etwas rascher verläuft als bei 25° C.

Die erste festgestellte Tatsache steht in bester Uebereinstimmung mit der Untersuchung von Willstätter und Rhodewald (1937), die eine starke Zunahme der Glykogenbildung nach der Zuckerzugabe gemessen haben. Willstätter und Rhodewald (S. 269) sagen auch aus : Die Umwandlung des Kohlehydrats verläuft nicht nach Meyerhof in einer Entstehung von Kohlehydrat-Phosphorsäure, « sondern die Gesamtmenge



A B

Figur 10.

A = glykogenfreie Hefezellen nach Jodprobe;
B = glykogenhaltige Hefezellen nach Jodprobe; 25 Minuten nach Zuckerzugabe.
(0,5 % Glukose, pH = 4,5, m/15 KH_2PO_4, 25° C)

des Zuckers wird unter Verlust des Reduktionsvermögens von der Hefe aufgenommen. Er wird in der einleitenden Reaktion der Gärungen als Glykogen „einverdichtet" ». Es sei hervorgehoben, dass keine unserer Beobachtungen und Messungen mit diesen Aussagen im Widerspruch steht.

Die zweite festgestellte Tatsache, dass bei erhöhter Temperatur die Glykogenbildung rascher verläuft, wird auch schon von Euler und Lindner (1915, S. 60) angegeben. Da bei erhöhter Temperatur die Zuckeraufnahme der Zellen nach unsern Messungen beträchtlich gesteigert ist (s. Figur 9), so ist dies wohlverständlich.

Zur weitern Frage, ob der Zucker allenfalls an der äusseren Oberfläche der Zelle adsorbiert und dort verändert wird, so dass er überhaupt nicht als Zucker in die Zelle eintritt, wie Wertheimer (1934, S. 530) aus seinen Versuchen glaubt schliessen zu dürfen, soll nicht Stellung genommen werden, weil unsere Versuche hierüber nichts aussagen.

Wenn wir uns nun vor Augen halten, dass der für die Atmung und Gärung benötigte Zucker wohl zweifellos aus dem Glykogen der Hefe

und nicht direkt aus der Aussenlösung stammt, so ist leicht einzusehen, dass die Geschwindigkeit der Atmung und Gärung sozusagen unabhängig von den Aenderungen des äusseren Milieus, z. B. der Suspensionsdichte, verläuft; im Gegensatz dazu ist zu erwarten, dass die Glykogenbildung genau wie die Zuckeraufnahme weitgehend von äusseren Bedingungen abhängig ist. Versuche über die Zuckeraufnahme und Glykogenbildung in Abhängigkeit von äusseren Bedingungen, wie Suspensionsdichte und Zuckerkonzentration, könnten einen weiteren Einblick gestatten; leider mussten sie der Kriegsverhältnisse wegen abgebrochen werden.

Zusammenfassung.

Methodischer Teil.

1. Die Zuckeraufnahme glykogenfreier, nicht wachsender Hefezellen (Bäckerhefe) und ihr gleichzeitiger Zuckerverbrauch durch die energieliefernden Reaktionen (Atmung und Gärung) wurde bei folgenden Versuchsbedingungen untersucht: 25° C, 35° C; Suspensionsdichte ca. 2‰, ca. 6‰; pH = 4,5; Salzgehalt: m/15 KH_2PO_4; Zuckeranfangskonzentration = 0,5 % Glukose; Versuchsdauer nach Zuckerzugabe : 1 Stunde.
2. Die Bestimmung der Atmung und Gärung geschah manometrisch nach der Methode von Warburg; die Bestimmung des Restzuckers wurde vorgenommen nach Neuweiler: Reduktion von Ferricyanid zu Ferrocyanid und stufenphotometrische Messung des entstehenden und in Suspension gehaltenen Berlinerblaus (s. Figur 1).
3. Für die Bestimmung der Zellenzahl in den Hefesuspensionen wurde eine photoelektrische Methode ausgearbeitet (s. Figuren 3—5, Tabellen 1—3).
4. Die Zellen der verwendeten Bäckerhefe können im allgemeinen als Rotationskörper von « Eiform » aufgefasst werden; es wurde bestimmt :

die mittlere Länge	$D = 6{,}33$; $\sigma_D = \pm 1{,}36$;
die mittlere Breite	$d = 5{,}07$; $\sigma_d = \pm 0{,}99$;
das Verhältnis D/d im Mittel	$= 1{,}30$; $\sigma_{D/d} = \pm 0{,}15$;
die mittlere Oberfläche	$= 102\ \mu^3$;
das mittlere Volumen	$= 96\ \mu^3$;

Volumen und Oberfläche wurden sowohl experimentell als auch rechnerisch ermittelt (s. Figur 7; Tabellen 4 u. 5).

Physiologischer Teil.

5. Die Zucker*aufnahme* ist in allen untersuchten Fällen erheblich (im Mittel 7mal) *grösser* als der aus Atmung und Gärung errechnete *Verbrauch* (s. Tabellen 8 a, 8 b).

6. Mit steigender Temperatur *nimmt* die Zuckeraufnahme *zu*, das Verhältnis Zuckeraufnahme zu Zuckerverbrauch ab (s. Tabellen 8 a, 8 b).
7. Mit steigender Suspensionsdichte *nimmt* sowohl die Zuckeraufnahme als auch das Verhältnis zwischen Zuckeraufnahme und Zuckerverbrauch *ab* (s. Tabellen 8 a, 8 b).
8. Unter den oben angeführten Versuchsbedingungen wird im Mittel pro Zelle :

   a) Glukose verbraucht (veratmet und vergärt):

   bei Suspensionsdichte 2 ‰ :
   bei 25° C : $4{,}5 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $4{,}21 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.
   bei 35° C : $7{,}1 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $6{,}63 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.
   bei Suspensionsdichte 6 ‰ :
   bei 25° C : $3{,}4 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $3{,}17 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.
   bei 35° C : $6{,}7 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $6{,}25 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.

   b) Glukose aufgenommen :

   bei Suspensionsdichte 2 ‰ :
   bei 25° C : $39{,}4 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $36{,}8 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.
   bei 35° C : $52{,}3 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $48{,}8 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.
   bei Suspensionsdichte 6 ‰ :
   bei 25° C : $21{,}8 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $20{,}4 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.
   bei 35° C : $35{,}9 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ pro Std. = $33{,}5 \cdot 10^{6}$ Moleküle pro sec.

   Werte für aufgenommenen Sauerstoff und abgegebene Kohlensäure s. Tabelle 9.

9. Pro cm^2 Zelloberfläche und Sekunde wird Glukose aufgenommen :

   bei Suspensionsdichte 2 ‰ :
   bei 25° C : $10{,}7 \cdot 10^{-9}$ g = $36{,}0 \cdot 10^{12}$ Moleküle
   bei 35° C : $14{,}2 \cdot 10^{-9}$ g = $47{,}8 \cdot 10^{12}$ Moleküle
   bei Suspensionsdichte 6 ‰ :
   bei 25° C : $5{,}9 \cdot 10^{-9}$ g = $19{,}9 \cdot 10^{12}$ Moleküle
   bei 35° C : $9{,}8 \cdot 10^{-9}$ g = $33{,}0 \cdot 10^{12}$ Moleküle

   Werte für aufgenommenen Sauerstoff und abgegebene Kohlensäure s. Tabelle 9.

10. Die energieliefernden Reaktionen der Zelle (Atmung und Gärung) sind weitgehend *unabhängig* von der Suspensionsdichte (d. h. dem relativen Reaktionsvolumen); die *Zuckeraufnahme* dagegen ist davon *stark abhängig*, obwohl das Volumen der verwendeten Hefe im Maximum nur 8 ‰ des Volumens der Suspension betrug (siehe Figur 9). Diesen Gegensätzen kommt hohe biologische Bedeutung zu.
11. Der aufgenommene Zucker wird offenbar zum grössten Teil in Glykogen umgewandelt; wenigstens lassen die daraufhin untersuchten Zellen schon 5 bis 10 Minuten nach Glukosezugabe mikroskopisch bereits Glykogenbildung erkennen, obwohl die Anfangsglukosekonzentration nur 0,5 % betrug.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. M. Geiger-Huber und unter seiner Leitung im Botanischen Institut der Universität Basel ausgeführt. Herrn Prof. Geiger-Huber danke ich herzlich für die mannigfachen Anregungen und für die tatkräftige Unterstützung während der Ausführung meiner Arbeit.

Herrn Prof. Senn, dem Vorsteher des Institutes, möchte ich ebenfalls den besten Dank aussprechen für das wohlwollende Interesse und für die Ueberlassung der Mittel des Institutes.

Basel, Botanisches Institut der Universität, Juni 1942.

Literaturverzeichnis.

1878 Abbe, E. Ueber Blutkörper-Zählung. In Ges. Abhandlg. I., 173—180, Jena 1904.
1929 Bernhauer, K. Oxydative Gärungen. Berlin.
1936 Bok, S. T. A quantitative analysis of the strukture of the cerebral cortex. Kon. Wet. Verhdlg. Amsterdam **35,** 1—55.
1940 Booij, H. L. The protoplasmic membrane regarded as a complex system. Recueil d. travaux bot. néerlandais Vol. **37,** Livr. 1, 1—77.
1929 Brauner, L. Pflanzenphysiologisches Praktikum, Jena, Teil I.
1937 Burn, J. H. Biologische Auswertungsmethoden. Berlin.
1895 Clautriau, G. Etude chimique du glycogène chez les champignons et les levures. Mém. cour. et autr. p. l'Acad. roy. d. Belg. 3/III.
1933 Collander, R. und Bärlund, H. Permeabilitätsstudien an Chara ceratophylla. II. Die Permeabilität für Nichtelektrolyte. Acta Bot. Fennica **11,** 1—114.
1937 — Einige Ergebnisse und Probleme der botanischen Permeabilitätsforschung. Sonderabdruck aus d. Schrift d. physiol.-ökon. Ges. z. Königsberg. **69,** Heft 2—4.
1940 Drawert, H. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora, **134,** 159—214.
1914 Euler und Lindner. Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung. Leipzig.
1938 Fisher, R. A. Statistical Methods for Research Workers. London.
1938 Fisher and Yates. Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research. London.
1917 Fitting, H. Untersuchungen über isotonische Koeffizienten und ihren Nutzen für Permeabilitätsbestimmungen. Jahrb. wiss. Bot. **57,** 553 bis 612.
1928 Fleischmann, W. Untersuchungen der Permeabilität für Kohlehydrate. Pflügers Arch. **220,** 448—465.
1929 Folin, O. und Haqvin, M. An improved form of Folin's micro method for blood sugar determinations. Journ. of biol. Ch. **83,** 115—120.
1930 Geiger-Huber, M. Ueber die Beeinflussung der Hefeatmung durch Neutralrot. Proc. Kon. Acad. v. Wetensch. Amsterdam, XXXIII, 1059—1068.
1934 — Ueber den Einfluss der Konzentration des Atmungsmaterials auf die Atmungsgeschwindigkeit von Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. **81,** 1—34.
1912 Guillermond, A. Les levures. Paris.
1902 Hamburger, H. J. Osmotischer Druck und Ionenlehre. Wiesbaden, Bd. I.

1909 Henneberg, W. Gärungsphysiologisches Praktikum. Berlin.
1926 Höber, R. Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig.
1926 Höfler, K. Zuckerpermeabilität plasmolysierter Protoplasten. Planta **2,** 454—475.
1918 — Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. Ber. d. bot. Ges. **36,** 414—422.
1930 — und Stiegler, A. Berechnung einer Zellgrösse. Protopl. **9,** 469 bis 512.
1927 Hoffmann, C. Ueber die Durchlässigkeit kernloser Zellen. Planta **4,** 584—605.
1913 Johannsen, W. Elemente der exakten Erblichkeitslehre. Jena.
1940 John, K. Ueber ein neuartiges Integriergerät und seine Anwendung insbesondere in der Biologie. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie, **57,** Heft 2, 163—168.
1940 — Die optische Färbung des Objektes und ihre Anwendung auf biologische Untersuchungen. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie, **57,** Heft 2, 172—177.
1933 Kobel, M. und Neuberg, C. Untersuchungen von Gärflüssigkeiten. Hdb. d. Pflz.-Analyse, Bd. **4,** II., 1253—1344.
1908 Kohl, E. G. Die Hefepilze. Leipzig.
1940 Koller, S. Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden und Leipzig.
1926 Kostytschew, S. Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Berlin.
1914 Krehan, M. Beiträge zur Physiologie der Stoffaufnahme in die lebende Pflanzenzelle. Intern. Zs. f. phys.-chem. Biol. Bd. I.
1889 Laurent, E. Nutrition hydrocarbonée et formation du glycogène chez la levure de bière. Annales de l'Institut Pasteur, **3,** 362.
1936 Longsworth, L. G. The estimation of bacterial populations with the aid of the photoelectric-densiometer. Journ. Bact. **32,** 307—328.
1941 Malm, M. Quantitative Bestimmungen der Permeabilität der Hefezellen für Phosphat. Ztschr. d. Naturwiss. **21.**
1914 Masing, R. Traubenzuckerpermeabilität in die menschlichen roten Blutkörperchen bei verschiedenen Temperaturen. Pflügers Arch. **156,** 401—425.
1925 Meyerhof, O. Ueber den Einfluss des Sauerstoffs auf die alkoholische Gärung der Hefe. Biochem. Zs. **162,** 43—86.
1934 — und Schulz, Quantitative Bestimmungen der Hexosen. Biochem. Zs. **287,** 206—211.
1880 Nägeli, C. v. Theorie der Gärung. Math. Phys. Abhdlg. d. k. Bayr. Akad. **13.**
1933 Neuweiler, W. Quantitative Bestimmung des Blutzuckers mittels des Stufenphotometers. Z. ges. exp. Med. **90,,** 534—539.
1927 Nord, F. F. Ueber die Zellvorgänge bei der Gärung. Protopl. **2,** 300—305.
1895 Overton, E. Allgemeine osmotische Eigenschaften der Zelle. Vierteljahresschrift Naturf. Ges. Zürich, **44,** 88—135.
1933 Osterhout, W. Permeability in large plant cells and in models. Ergebn. Physiol. **35,** 967—1021.
1929 Pütter, A. Auswertung zahlenmässiger Beobachtungen in der Biologie. Berlin.
1922 Prát, S. Plasmolyse und Permeabilität. Biochem. Zs. **128,** 557—568.
1913 Rubner, M. Die Ernährungsphysiologie der Hefezellen bei alkoholischer Gärung. Leipzig 1913 (s. a. Arch. f. Anat. u. Phys., Suppl.-Bd., 256 bis 361).

1912 Ruhland, W. Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. **51,** 377—431.
1926 — und Hoffmann, C. Die Permeabilität von Beggiatoa mirabilis. Planta **1,** 1—83.
1938 Runnström, J. und Sperber, E. Zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Permeabilität und Stoffwechsel der Hefezelle. Biochem. Zs. **298,** 340—367.
1892 Sachs, J. Beiträge zur Zellenlehre. Flora **50** n. R., 57—67.
1929 Seliber, G. und Katznelson, R. Einfluss der Zusammensetzung des Nährbodens auf das Gewicht und den osmotischen Wert der Hefezelle. Protoplasma **7,** 204—231.
1927 Söhngen, N. L. en Wieringa, K. T. Permeabiliteitsbepalingen met Saccharomyces cerevisiae, Nederl. Tijdschr. v. Hyg. Mikrob. en Serol. **1** u. **2,** 88—95.
1936 Steward, F. The absorption and accumulation of solutes by living plant cells. Ann. of Botany **50,** 345—366.
1921 Strasburger, E. Das botanische Praktikum. Jena.
1905 Swellengriebel, N. H. Ueber Plasmolyse und Turgorregulation der Presshefe. Centralbl. f. Bakteriol. 2. Abtlg. **14,** 374—388, 481—492.
1931 Trautwein und Wassermann. Untersuchungen der pH-Empfindlichkeit der atmenden und gärenden Hefe. Biochem. Zs. **236,** 33—53.
1922 Warburg, O. und Negelein, E. Ueber den Energieumsatz bei der Kohlensäureassimilation. Zs. f. phys. Chemie, **102,** 236—266.
1926 — Ueber den Stoffwechsel bei Tumoren. Berlin.
1927 — Ueber den Stoffwechsel der Hefe. Biochem. Zs. **189,** 350—353.
1929 Watzadse, G. Physikalisch-chemische Untersuchungen zur Frage der Stoffverteilung zwischen Zelle und Umgebung. Pflügers Archiv **222,** 640—648.
1932 Wermel, E. und Ignatjewa, Z. P. Studien über Zellgrösse und Zellwachstum. Zs. f. Zellforschg. **16,** 674—705.
1934 Wertheimer, E. Ueber die ersten Anfänge der Zuckerassimilation der Hefe. Protoplasma **21,** 522—560.
1921 Willstätter, R. und Steibelt. Ueber die Gärung maltasearmer Hefen. Zs. f. physiol. Ch. **115,** 221—234.
1937 — und Rhodewald, M. Ueber die erste Phase der Gärung durch die Hefe. Zs. f. physiol. Ch. **247,** 269—280.
1909 Zeiss, C. Broschüre über Blutkörper-Zählapparat. Jena.
(1938) Zeiss, C. und Krebs, W. Klinische Kolorimetrie mit dem Pulfrich-Photometer. Jena (ohne Jahrzahl).

Lebenslauf.

Am 12. September 1903 in Essen (Deutsches Reich) als Sohn des Werkobermeisters Wilhelm Musfeld und seiner Ehefrau geb. Kärger geboren, besuchte ich, Karl Albert *Wilhelm Musfeld,* daselbst die Oberrealschule. Nach einer Praktikantenzeit bei der Firma Friedr. Krupp ging ich an die höhere technische Lehranstalt in Lage (Lippe) und absolvierte diese 1926 mit dem Abschlusszeugnis als Elektroingenieur. Anschliessend war ich einige Jahre in technischen Betrieben angestellt, so bei Siemens-Halske-Schuckert, Berlin.

Da ich wegen abermaliger Krisenzeit aus der technischen Laufbahn zur technisch-pädagogischen Tätigkeit innerhalb der Landwirtschaft überging, ergab es sich, dass ich bei meinem Studienbeginn an der Universität Basel neben den naturwissenschaftlichen Fächern vorerst die pädagogischen, psychologischen und philosophischen Vorlesungen und Seminarien besuchte bei den Herren Professoren und Dozenten Gschwind, Häberlin, Probst, Schmalenbach.

Nach meiner Immatrikulation nahm ich teil an den Vorlesungen und Praktika der folgenden Herren Professoren und Dozenten: Bernoulli, Edlbacher, Erlenmeyer, Fichter, Flatt, Geiger-Huber, Hagenbach, Kuhn, Portmann, Ruggli, Rupe, Schüepp, Senn, Vischer, Wehrli, um mich schliesslich der Ausarbeitung einer Dissertation auf dem Gebiete der physiologischen Botanik unter Leitung von Herrn Professor Dr. M. Geiger-Huber zuzuwenden.

Allen meinen verehrten Lehrern spreche ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.